

DISSERTATION

**Bedeutung von Cytochrom-P450-  
Polymorphismen für Verlauf, Erfolg und  
Nebenwirkungen der Therapie mit  
Antidepressiva**

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -

Universitätsmedizin Berlin

von

Caroline Lorberg

aus Haan

Dekan: Prof. Dr. Martin Paul

Gutachter: 1. Priv.- Doz. Dr. med. J. Kirchheiner  
2. Priv.- Doz. Dr. T. Bschor  
3. Prof. Dr. med. J. Priller

eingereicht: 08.03.2005

Datum der Promotion: 21.11.2005

**Abstract**

Im Bereich der medikamentösen antidepressiven Therapie ist die Bedeutung von erblichen Polymorphismen arzneistoffmetabolisierender Enzyme bereits in vielen Studien untersucht und gezeigt worden. Die meisten Antidepressiva werden über polymorphe Cytochrom-P450-Enzyme verstoffwechselt. Diese Arbeit befasst sich mit der Fragestellung, ob die Häufigkeitsverteilung der CYP2D6-, CYP2C19- und CYP2C9-Allele in der an Depression erkrankten Studienpopulation sich von der in der Normalbevölkerung unterscheidet und ob Veränderungen in der Pharmakokinetik, wie sie durch Cytochrom-P450-Polymorphismen verursacht werden, unter normalen klinischen Bedingungen Auswirkungen auf die Wirksamkeit der antidepressiven Therapie, die Nebenwirkungsrate und den Verlauf der Erkrankung haben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden 334 Patienten auf die häufigsten CYP2D6-Allele (\*3,\*4,\*5,\*6 und Duplikation) und CYP2C19- und CYP2C9-Allele \*2 und \*3 mittels Genotypisierung untersucht. Die Bestimmung der seltener auftretender CYP2D6-Allele (\*8,-\*9,\*10,\*17,\*2 und \*41) erfolgte zusätzlich bei 200 Patienten. Die entsprechenden klinischen Fragebögen mit Angaben zur Anamnese, Schwere der Erkrankung, Therapieverlauf und Nebenwirkungsprofil wurden von 233 Patienten in Abhängigkeit des CYP2D6- und CYP2C19-Genotyps ausgewertet. Für die Beurteilung des Langzeittherapieverlaufs standen jedoch deutlich weniger Patientendaten zur Verfügung, so dass die Ergebnisse zum Teil nur für den CYP2D6-Genotyp ausgewertet werden konnten. Die genetischen Analysen ergaben, dass die Häufigkeitsverteilung der CYP2D6-, CYP2C19- und CYP2C9-Polymorphismen in der untersuchten Studienpopulation keine signifikante Änderung im Vergleich zur Normalbevölkerung aufwies. Während der Einfluss der CYP2D6-Genotypen auf pharmakokinetische Parameter eindeutig nachgewiesen ist, konnten die Ergebnisse dieser Arbeit weitestgehend keinen Zusammenhang zwischen der Schwere der Depression, der Therapieresponse, der Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen und dem CYP2D6- und CYP2C19-Genotyp herstellen.

**Cytochrom-P450-Polymorphismen****CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9****Genotypisierung****Depression****antidepressive Therapie****Therapieresistenz**

---

**Abstract**

The importance of genetic polymorphisms of drug metabolizing enzymes have been already investigated and proved in many studies before. Most of antidepressants are metabolized by cytochrome P450 enzymes. The aim of this study was to determine if there is a difference in the distribution of CYP2D6-, CYP2C19- and CYP2C9-alleles in inpatients with major depression in comparison to the healthy population and if changes in the pharmacokinetic, created by cytochrome P450 polymorphisms, can have effects on the efficacy of antidepressant therapy, rate of intolerable side effects and development of the depression. We examined 334 patients by genotyping for the most important CYP2D6-alleles (\*3,\*4,\*6,\*5 and duplication) and the CYP2C19- and CYP2C9-alleles \*2 and \*3. Further 200 patients were tested for the more infrequent CYP2D6-alleles (\*8,\*9,\*10,\*17,\*2 and \*41). The corresponding clinical questionnaires containing informations about the anamnesis, severity of the disease, therapeutic outcome and intolerable side effects have been evaluated of 233 patients in dependence of the CYP2D6- and CYP2C19-genotype. There were significant less clinical data for the evaluation of long term therapy response be available, so that the results could be partially only analysed for the CYP2D6-genotype. The genetic analysis detected that the distribution of the CYP2D6-, CYP2C19- and CYP2C9-polymorphisms in the study population didn't reached significant changes in comparison to the healthy population. While the influence of CYP2D6-genotypes on pharmacokinetic parameters is clearly demonstrated, the results of this study mainly couldn't establish a relation between the severity of depression, therapeutic response, frequency and severity of side effects and the CYP2D6 and CYP2C19-genotype.

**cytochrome-P450-polymorphisms**

**CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9**

**genotyping**

**depression**

**antidepressant therapy**

**therapeutic failure**

**Inhaltsverzeichnis****Abkürzungsverzeichnis**

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b>EINLEITUNG</b>   | <b>1</b>  |
| <b>1.1</b> | <b>Therapieresistenz in der Behandlung der Depression</b>   | <b>1</b>  |
| <b>1.2</b> | <b>Genetische Variabilität in der Pharmakokinetik von Antidepressiva</b>                                    | <b>3</b>  |
| 1.2.1      | Cytochrom-P450-Isoenzyme  | 3         |
| 1.2.2      | Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2D6  | 4         |
| 1.2.3      | Das Cytochrom-P450-Enzymsystems im Kontext mit<br>anderen Einflussfaktoren auf den Arzneimittelmetabolismus | 7         |
| 1.2.4      | Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2C9  | 10        |
| 1.2.5      | Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2C19   | 12        |
| <b>1.3</b> | <b>Herleitung der Aufgabenstellung</b>  | <b>15</b> |
| <b>2</b>   | <b>MATERIAL UND METHODEN</b>  | <b>16</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Studiendesign</b>  | <b>16</b> |
| 2.1.1      | Patientenauswahl  | 16        |
| 2.1.2      | Stationärer Ablauf der Studie   | 19        |
| <b>2.2</b> | <b>Genetische Analysen</b>  | <b>20</b> |
| 2.2.1      | DNA-Extraktion mittels Adsorption an Magnetpartikel   | 20        |
| 2.2.2      | Photometrische DNA-Quantifizierung  | 21        |
| <b>2.3</b> | <b>Genotypisierung</b>  | <b>21</b> |
| 2.3.1      | Polymerase - Kettenreaktion   | 21        |
| 2.3.2      | Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP)   | 22        |
| 2.3.3      | Bestimmung der CYP2D6-Allele  | 22        |
| 2.3.4      | Bestimmung der CYP2C9-Allele  | 24        |
| 2.3.5      | Bestimmung der CYP2C19-Allele   | 25        |
| 2.3.6      | Material, Methoden, Ansätze und Reaktionsbedingungen<br>für die PCR-RFLP-Tests                              | 26        |
| 2.3.7      | Übersicht über alle PCR-Reaktionen  | 28        |
| 2.3.8      | Agarosegel-Elektrophorese   | 40        |
| <b>2.4</b> | <b>Software und statistische Berechnungen</b>   | <b>41</b> |

---

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>3</b>   | <b>ERGEBNISSE</b>   | <b>42</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Häufigkeitsverteilung der CYP2D6–Polymorphismen</b>  | <b>42</b> |
| 3.1.1      | Häufigkeit der CYP2D6-Genotypen   | 42        |
| 3.1.2      | Häufigkeitsverteilung der gefundenen SNPs<br>( <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> ) und anderer Genvarianten  | 45        |
| 3.1.3      | Häufigkeitsverteilung der detektierten CYP2D6-Allele  | 47        |
| <b>3.2</b> | <b>Häufigkeit der CYP2C19-Genotypen</b>   | <b>47</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Häufigkeit der CYP2C9-Genotypen und CYP2C9-Allele</b>  | <b>48</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Art der diagnostizierten Depression ; Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression (CGI, GAS und Hamilton-Score) und der Anzahl der aktiven Allele und dem Geschlecht</b>                         | <b>49</b> |
| 3.4.1      | Art und Häufigkeit der ICD-Diagnosen unter 233 depressiven Patienten  | 49        |
| 3.4.2      | Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele  | 50        |
| 3.4.3      | Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und dem CYP2C19-Genotyp   | 51        |
| 3.4.4      | Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und dem Geschlecht  | 52        |
| <b>3.5</b> | <b>Anzahl der verordneten Antidepressiva mit Unterscheidung zwischen CYPD6- und CYPC19-Substrate; Korrelation zwischen der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele bzw. dem CYP2C19-Genotyp und der Therapieresponse</b> | <b>52</b> |
| 3.5.1      | Über CYP2D6 und CYP2C19 verstoffwechselte Antidepressiva  | 52        |
| 3.5.2      | Therapieresponse in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYPD6-Allele  | 53        |
| 3.5.3      | Therapieresponse in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp  | 55        |
| <b>3.6</b> | <b>Nebenwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele</b>  | <b>56</b> |
| <b>3.7</b> | <b>Langzeitresponse (Hamilton, CGI und GAS) in Abhängigkeit der aktiven CYP2D6-Allele und des CYP2C19-Genotyps</b>  | <b>58</b> |
| 3.7.1      | Korrelation zwischen Langzeitresponse (CGI und GAS) und Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele  | 58        |
| 3.7.2      | Korrelation zwischen Langzeitresponse (HDRS) und Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele   | 60        |
| 3.7.3      | Korrelation zwischen Langzeitresponse (GAS und HDRS) und CYP2C19-Genotyp  | 62        |

---

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| <b>3.8</b> | <b>Auswertung der Katamnese; Unerwünschte Nebenwirkungen und Häufigkeit der Rehospitalisation in Abhängigkeit der CYP2D6-Allel-Aktivität</b>               | <b>62</b> |
| 3.8.1      | Rehospitalisation in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele   | 63        |
| 3.8.2      | Unerwünschte Arzneimittelwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele; Medikamentenwechsel   | 63        |
| <b>4</b>   | <b>DISKUSSION</b>  | <b>65</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Korrelation zwischen CYP2D6-Polymorphismen und dem Krankheitsbild der Depression , ihrem Verlauf und der Therapieresponse</b>                           | <b>65</b> |
| 4.1.1      | Häufigkeitsverteilung von CYP2D6 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung  | 65        |
| 4.1.2      | Häufigkeitsverteilung von CYP2C19 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung   | 66        |
| 4.1.3      | Häufigkeitsverteilung von CYP2C9 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung  | 67        |
| 4.1.4      | Bewertung der Häufigkeitsverteilung von Cytochrom-P450-Polymorphismen in dieser Arbeit im Vergleich zur Normalbevölkerung anhand anderer Studienergebnisse | 67        |
| 4.1.5      | Schwere der Depression in Abhängigkeit von der Anzahl der CYP2D6-Allele und dem CYP2C19-Genotyp  | 68        |
| 4.1.6      | Schwere der Depression in Abhängigkeit vom Geschlecht  | 69        |
| 4.1.7      | CYP2D6-Genotyp und Therapieresponse  | 70        |
| 4.1.8      | Zusammenhang zwischen Nebenwirkungsrate und Anzahl der CYP2D6-Allele   | 73        |
| <b>5</b>   | <b>ZUSAMMENFASSUNG</b>   | <b>75</b> |
|            | <b>Literaturverzeichnis</b>  |           |
|            | <b>Danksagung</b>  |           |
|            | <b>Erklärung an Eides Statt</b>  |           |

---

**Abkürzungen**

|                         |  |
|-------------------------|--|
| AD                      | Antidepressivum  |
| AS                      | Aminosäure   |
| AUC                     | Area under the Concentration Time Curve (Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve) |
| BE                      | Blutentnahme   |
| bp                      | Basenpaare   |
| C                       | Konzentration  |
| CGI                     | Clinical Global Impression   |
| CI                      | Confidence Interval (Vertrauensintervall)  |
| $C_{\max}$              | maximale Konzentration   |
| $C_{\min}$              | minimale Konzentration   |
| CYP                     | Cytochrom-P450   |
| DIFGAS                  | Differenz der GAS-Werte  |
| DIFFH                   | Differenz der HDRS-Werte   |
| DSM-IV                  | Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4.Auflage                     |
| EDTA                    | Ethylendiamintetraacetat   |
| EM                      | Extensive-Metabolizer (schneller Metabolisierer)                                     |
| GAS                     | Global Assessment Scale  |
| GAS-AmbuPsy-Punkte      | Ergebnis der ambulant durchgeführten GAS   |
| GD                      | Grunddaten   |
| HDRS                    | Hamilton Depression Rating Scale   |
| HMG-CoA-Reduktasehemmer | 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoenzymA-Reduktasehemmer                                  |
| IM                      | Intermediate-Metabolizer (mittelschneller Metabolisierer)                            |
| IMs                     | Intermediate-Metabolizers (mittelschnelle Metabolisierer)                            |
| KB                      | Katamnesebogen   |
| kDA                     | Kilo Dalton  |
| $K_m$                   | Michaeliskonstante: Substratkonzentration bei halbmaximaler Reaktionsgeschwindigkeit |
| MADRS                   | Montgomery Asberg Depression Rating Scale  |



---

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| Magna-Pure                    | Gerät zur DNA-Extraktion mittels Adsorption an Magnetpartikel  |
| MDMA                          | 3,4-Methylendioxyamphetamin  |
| MR                            | Metabolic Ratio (Metabolisierungsquotient)   |
| MS                            | Messungsbogen  |
| NADPH                         | Nikotinamiddiphosphat  |
| nt*                           | Nukleosidposition nach Kimura et al., 1989   |
| nt**                          | Nukleosidposition nach <a href="http://www.imm.ki.se/CYPallels/cyp2D6.htm">http://www.imm.ki.se/CYPallels/cyp2D6.htm</a> |
| ö.B.                          | örtlicher Bereich  |
| p                             | Signifikanzniveau (festgelegt auf 0,05)  |
| PERCENTH                      | prozentualer Abfall der HDRS-Werte   |
| PCR                           | Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)  |
| PM                            | Poor-Metabolizer (langsamer Metabolisierer)  |
| PMs                           | Poor-Metabolizers (langsame Metabolisierer)  |
| RFLP                          | Restriction Length Fragment Polymorphism (Restriktionsfragment-längenpolymorphismus)                                     |
| SD                            | Standardabweichung   |
| SKID                          | strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV   |
| SNP                           | Single Nucleotide Polymorphism   |
| SRS                           | Substrate Recognition Site (Substrat-Erkennungsstelle)   |
| SSRIs                         | Selective Serotonine Reuptake Inhibitors (selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer)                                    |
| SUMCGI                        | Summenscore der CGI  |
| SUMHDRS                       | Summenscore der HDRS   |
| TBE-Puffer                    | Tris-Borat-EDTA-Puffer   |
| Tris                          | Tris-(Hydroxymethyl)-Aminomethan   |
| UAW                           | unerwünschte Arzneimittelwirkung   |
| UKU (Side Effect Ratig Scale) | Nebenwirkungsskala   |
| UM                            | Ultrarapid-Metabolizer   |
| UV                            | Ultraviolett   |
| V <sub>max</sub>              | maximale Reaktionsgeschwindigkeit  |
| wt/wt                         | Wildtyp  |
| wt/m                          | Wildtyp/Mutation (heterozygot)   |
| m/m                           | Mutation (homozygot)   |
| ZNS                           | zentrales Nervensystem   |
| *INN                          | Medikamentenwirkstoff  |

# 1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob es molekulargenetische Messparameter gibt, die mit der Wirksamkeit und/oder der Nebenwirkungsrate von Antidepressiva einhergehen. In Probandenstudien gut untersucht sind genetische Varianten (Polymorphismen) auf der Ebene der Pharmakokinetik. In dieser Arbeit wird der klinische Wert einer Genotypisierung arzneistoffwechselrelevanter Enzyme im Hinblick auf eine individuelle Optimierung der antidepressiven Therapie untersucht. Im Bereich der Pharmakodynamik können nach neuen Erkenntnissen auch genetische Varianten im Bereich von Serotonin-, Noradrenalin- und Dopamin-Transportern und Rezeptoren eine Rolle in der individuell unterschiedlichen Wirksamkeit einer Antidepressivatherapie spielen.

## 1.1 *Therapieresistenz in der Behandlung der Depression*

Das Krankheitsbild der Depression ist eine schwerwiegende Störung assoziiert mit erheblicher Morbidität und Mortalität, die Individuen jeden Alters und ethnischer Herkunft betrifft. Mit einer Punktprävalenz von etwa 4-11% der erwachsenen Bevölkerung sind Frauen häufiger als Männer betroffen (Wittchen et al., 2001). Das Lebenszeitrisko beträgt in nationalen wie internationalen Studien etwa 16-20% (Jacobi et al., 2004, Kessler et al., 2003). Die Weltgesundheitsorganisation prognostiziert, dass der unipolaren Depression in den nächsten Jahrzehnten in den entwickelten Ländern die größte Bedeutung im Hinblick auf die Einschränkung der Lebensqualität im Vergleich zu allen anderen Erkrankungen zukommen wird (Murray und Lopez, 1997). Für die Mehrzahl der Patienten bedeutet die Depression eine chronische oder wiederkehrende Störung mit einer Rückfallwahrscheinlichkeit von 13% innerhalb der ersten sechs Monate und 87% in einem Zeitraum von 15 Jahren (Mueller et al., 1999). Ein chronischer Krankheitsverlauf, d.h. eine Persistenz der Symptome über zwei Jahre trotz verschiedener Therapiestrategien, findet sich bei etwa 15-30% der Patienten (Angst, 1980, Laux, 1986, Keller et al., 1992) bzw. eine *Non-Response-Rate* von 19-34% (Fava and Davidson, 1996).

Antidepressiva sind sowohl in der Akut- als auch in der Langzeitbehandlung der unipolaren depressiven Störung Therapie der ersten Wahl. Es sprechen jedoch bis zu 50% aller Patienten nicht ausreichend auf die antidepressive Erstmedikation an (Bauer et al., 2002, Nelson, 2003). Therapieversagen und intolerable medikamentöse Nebenwirkungen beeinträchtigen nicht nur erheblich das Wohlbefinden der betroffenen Person, sondern führen auch zu einem Kostenanstieg im Gesundheitswesen. Eine Untersuchung zur externen Qualitätssicherung der statio-

nären Depressionsbehandlung (Härter et al., 2004) ergab, dass sich beim Auftreten von Therapieresistenz oder erheblichen unerwünschten Nebenwirkungen unter der medikamentösen Therapie die Krankenhausaufenthaltsdauer verdoppelte.

Die Therapieresistenz wird am häufigsten definiert als ein Nicht- oder ungenügendes Ansprechen auf eine Behandlung mit mindestens einem Antidepressivum in adäquater Dosis und Behandlungsdauer (Fava and Davidson, 1996). Diese sollte 4-6 Wochen betragen. Als klinisch-pragmatische Definition gilt „eine unzureichende Besserung auf wenigstens zwei Antidepressiva mit unterschiedlichen Wirkungsschwerpunkten und in ausreichender Dosierung und Therapiedauer“ (Helmchen, 1990). In den Richtlinien der Forschung bedeutet therapeutisches Ansprechen eine  $> 50\%$ -ige Reduktion (Thase, 2003) der Items in den standardisierten Untersuchungstests wie der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS), der *Clinical Global Impression Scale* (CGI) oder der *Montgomery Asberg Rating Scale* (MADRS). Dabei sollte beachtet werden, dass eine vollständige Remission ein Verschwinden aller Symptome mit Rückkehr auf das ursprüngliche Funktionsniveau des Patienten beschreibt (Thase, 2003). Mögliche Ursachen für die Therapieresistenz können diagnostische Faktoren, wie Fehldiagnosen, mangelnde Compliance, inadäquate Behandlung, Variabilität innerhalb der **Pharmakokinetik** oder **Pharmakodynamik**, psychologische und Persönlichkeitsfaktoren sein (aus: Möller, Laux, Kampfhammer, 2002).

Änderungen in der Plasmakonzentration eines Antidepressivums können bedingt sein durch *Non-Compliance*, durch Arzneimittelinteraktionen und durch Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und Nahrungsstoffen (Sorensen, 2002). Insgesamt geht man bei den Verordnungen von Antidepressiva davon aus, dass die Medikamente in etwa 40-50% der Fälle nicht wie vorgeschrieben eingenommen werden (Lin et al., 1995, Linden, 1997, McDonald, 2002). Dieses sollte mittels Serumspiegelbestimmungen initial ausgeschlossen werden.

Genetische Variabilität beeinflusst die Wirkung von Arzneimitteln von der Absorption bis zur Elimination (Evans und McLeod, 2003), d.h. sowohl auf der Ebene der Pharmakokinetik als auch auf der Ebene der Pharmakodynamik (Medikamenteneffekte). Genetische Varianten im Arzneistoffmetabolismus, zu dem das Cytochrom-P450-Enzymsystem gehört, haben daher Einfluss auf pharmakokinetische Kenngrößen wie die Plasmakonzentration, die Clearance, das Verteilungsvolumen, die Eliminationshalbwertszeit und die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC).

Aus klinischer Sicht gelten Wahnideen, das Fehlen von Vitalstörungen, eine schlechte soziale Adaptation, eine neurotische Primärpersönlichkeit sowie ein Nichtansprechen auf eine frühere

medikamentöse Behandlung als prädiktiv für ein eher schlechtes Ansprechen auf Antidepressiva (Möller, 1997).

Die Vielzahl der möglichen Einflussfaktoren und die geringe Anzahl von Langzeituntersuchungen sind Gründe dafür, dass es zurzeit noch keine validen Prädiktoren bezüglich der Therapieresistenz (Fava, 2003) oder der Therapieresponse (Kirchheiner et al., 2003, Seretti et al., 2002, Arranz et al., 2001) gibt.

## **1.2 Genetische Variabilität in der Pharmakokinetik von Antidepressiva**

### **1.2.1 Cytochrom-P450-Isoenzyme**

Eine Vielzahl von Antidepressiva wird in der Phase 1 der Biotransformation durch Cytochrom-P450-Enzyme (Monooxygenasen) umgewandelt. Diese katalysieren Oxidations- und Reduktionsreaktionen. Dabei entstehen zumeist hydrophilere Metabolite, die nach Konjugation mit negativ geladenen Molekülen, wie Acetyl- Sulfat- oder Glucuronylgruppen (Phase 2 der Biotransformation) leichter biliär oder renal ausgeschieden werden können. In der Regel verringert sich dadurch die biologische Aktivität der Substrate. Zum Teil entstehen aber bei der Transformation aus inaktiven („*prodrugs*“) erst die biologisch aktiven Substanzen. Ebenso können die Abbauprodukte (Metabolite) eine ähnlich starke Aktivität wie die Muttersubstanz aufweisen (Bsp. Imipramin -> Desipramin). Dies ist zu berücksichtigen bei der Berechnung von Dosisempfehlungen in Abhängigkeit vom Metabolisierungsstatus (Kirchheiner et al., 2001). Insgesamt werden die Cytochrom-P450-Enzyme für die Verstoffwechslung von etwa 50% aller Medikamente verantwortlich gemacht (Bertz und Grannemann, 1997). Neben dem Metabolismus von Fremdstoffen sind sie an der Synthese und dem Abbau von endogenen Substraten (Rendic und Di Carlo, 1997) und an wichtigen Funktionsabläufen (Wachstum, Differenzierung, Apoptosis, etc.) im menschlichen Organismus beteiligt (Nebert, 2000). In diesem Zusammenhang wird eine Beziehung zwischen Krankheitssuszeptibilität und genetischer Variabilität diskutiert (Lindpaintner, 2003, Shimada et al., 1994).

Es handelt sich beim Cytochrom-P450 um eine durch eine Supergenfamilie kodierte Gruppe von intrazellulären, membrangebundenen Hämproteinen. Abhängig vom Ausmaß der Aminosäuresequenzhomologie werden sie verschiedenen Subfamilien zugeordnet. Durch die Entdeckung neuer Isoenzyme in den letzten Jahren wurde eine einheitliche Nomenklatur erstellt (Nebert et al., 1987, <http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>). Cytochrom-Enzyme lassen sich ubiquitär im menschlichen Körper nachweisen; im ZNS (Tyndale et al., 1991a), in der Lunge (Guidice et al., 1997) und in vaskulären Endothelialzellen (Nebert, 1999). Ein

Großteil ist in der Leber intrazellulär im glatten endoplasmatischen Retikulum lokalisiert (Bertilsson et al., 1997). Sie zeichnen sich durch eine vergleichsweise geringe Substratspezifität aus, d.h. ein Enzym kann mehrere Substrate metabolisieren, ebenso kann ein Substrat von mehreren Isoenzymen verstoffwechselt werden. Fünf Vertreter dieser Enzymfamilien, CYP2D6, CYP3A4, CYP1A2, CYP2C19 und CYP2C9, metabolisieren den weitaus größten Teil aller lebergängigen Medikamente (Shimada et al., 1994) und haben somit bedeutenden Einfluss auf den *First-pass*-Effekt von Medikamenten und das Ausmaß und die Dauer ihrer Wirkung.

Mutationen im Bereich von Genabschnitten, die für diese Cytochrom-P450-Enzyme kodieren, führen z.T. zu Enzymvarianten mit höherer Aktivität (CYP2D6: Dahl et al., 1995), niedrigerer (CYP2C9: Miners et al., 1998) oder vollkommen fehlender Aktivität (CYP2D6 und CYP2C19: De Morais et al., 1994, Sachse et al., 1997). Häufig können sie ohne jede funktionelle Auswirkung sein. Enzymvarianten werden dann als genetische Polymorphismen bezeichnet, wenn es sich bei ihnen um monogen vererbte Merkmale handelt, die sich in einer Bevölkerung in mindestens zwei Phänotypen manifestieren, von denen keiner mit einer Häufigkeit unter einem Prozent vorkommt (Meyer, 1994). Träger dieser Allelvarianten laufen bei verminderter Metabolisierungskapazität Gefahr, vermehrt Nebenwirkungen zu entwickeln (Müller et al., 2002, Chen et al., 1996, Chou et al., 2000). Das betrifft vor allem Medikamente mit geringer therapeutischer Breite. Beschrieben wurden unter anderem Assoziationen zwischen verminderter CYP2D6-Aktivität und dem Auftreten kardiotoxischer Effekte bei der Therapie mit trizyklischen Antidepressiva sowie proarrhythmischer Effekte bei der Therapie mit Antiarrhythmika (Schmitz und Drobnik, 2003). Umgekehrt kann ein zu schneller Abbau von Antidepressiva subtherapeutische Plasmaspiegel zur Folge haben (Bertilsson et al., 2001, Dalén et al., 1998). Inzwischen ist bekannt, dass etwa 40% des Cytochrom-P450-abhängigen Arzneistoffwechsels von polymorphen Enzymen durchgeführt wird (Ingelman-Sundberg, 1999).

### 1.2.2 Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2D6

Am Cytochrom-P450-Gesamtgehalt der Leber hat das Enzym CYP2D6 einen Anteil von nur ca. 2% (Shimada et al., 1994). Es besitzt ein Molekulargewicht von 55,8 kDA und besteht aus 497 Aminosäuren. Nach bisherigen Kenntnissen ist es verantwortlich für die Verstoffwechslung von etwa 25% aller Medikamente (Bertz und Grannemann, 1997). Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die wichtigsten CYP2D6-Substrate.

Tabelle 1: CYP2D6-Substrate

| Beta-Blocker | Antiarrhythmika | Antipsychotika | Antidepressiva | Weitere Substrate |
|--------------|-----------------|----------------|----------------|-------------------|
| Carvedilol   | Ajmalin         | Haloperidol    | Desipramin     | Tramadol          |
| Timolol      | Encainid        | Perphenazin    | Amitriptylin   | Codein            |
| Metoprolol   | Flecainid       | Thioridazin    | Nortriptylin   | Tropisetron       |
| Propranolol  | Mexiletin       | Risperidon     | Fluoxetin      | Methamphetamin    |
|              | Propafenon      | Perazin        | Fluvoxamin     | “Ecstasy” (MDMA)  |
|              | Sparteин*       |                | Venlafaxin     | Galanthamin       |
|              |                 |                | Maprotilin     | Phenacetin        |
|              |                 |                | Mianserin      | Perhexilin        |
|              |                 |                | Paroxetin      | Lidocain          |
|              |                 |                |                | Tamoxifen         |
|              |                 |                |                | Dextromethorphan  |
|              |                 |                |                | Debrisoquin*      |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2D6-Substrate, Übersicht auf <http://dml.georgetown.edu/depts-pharmacology/davetab.html>, \* Substrate heute nicht mehr im Gebrauch, aber entscheidend bei der Entdeckung der CYP2D6-Polymorphismen

Eine Unterscheidung der untersuchten Probanden in *Poor-* und *Rapid-Metabolizer* gelang erstmals mit Hilfe der Phänotypisierung in den siebziger Jahren (Eichelbaum 1979, Mahgoub et al., 1977). Die Phänotypisierung gibt Aufschluss über die aktuelle Metabolisierungsleistung eines Patienten. Dazu wird eine Testsubstanz, die über CYP2D6 abgebaut wird (z.B. Debrisoquin), appliziert und nachfolgend die Konzentration des Hauptmetaboliten (4-Hydroxydebrisoquin) im Sammelurin gemessen. Anhand der Konzentration des Abbauproduktes kann auf die individuelle Metabolisierungsgeschwindigkeit geschlossen werden und eine Einteilung in Normal-, Langsam-, Schnell- und Ultraschnell-Metabolisierer erfolgen. Die Sequenzierung der DNA gelang erst 15 Jahre nach der Entdeckung dieser funktionellen Polymorphismen (Kimura et al., 1989, Gonzalez et al., 1988).

Das CYP2D6-Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosom 22 (Eichelbaum et al., 1987) in einem Cluster mit den zwei Pseudogenen CYP2D7 und CYP2D8. Dem polymorphen Charakter des CYP2D6-Enzyms entspricht, dass neben dem Wildtyp-Allel \*1A inzwischen über 70 CYP2D6-Allelvarianten bekannt sind (Daly et al., 1996a, <http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>). Hiervon ist nur ein geringer Anteil für Enzyme mit modifizierter Aktivität kodiert. Die Allele \*3, \*4, \*5 und \*6 zeigen keine Aktivität (defizient), die Allele \*2, \*9, \*10 und \*17 eine reduzierte und die Allele \*1x2 oder \*2x2 durch die Duplikation aktiver Allele eine erhöhte Metabolisierungsaktivität. Die Einteilung in PMs (*Poor-Metabolizers*), IMs (*Intermediate-Metabolizers*), EMs (*Extensive-Metabolizers*) und UMs

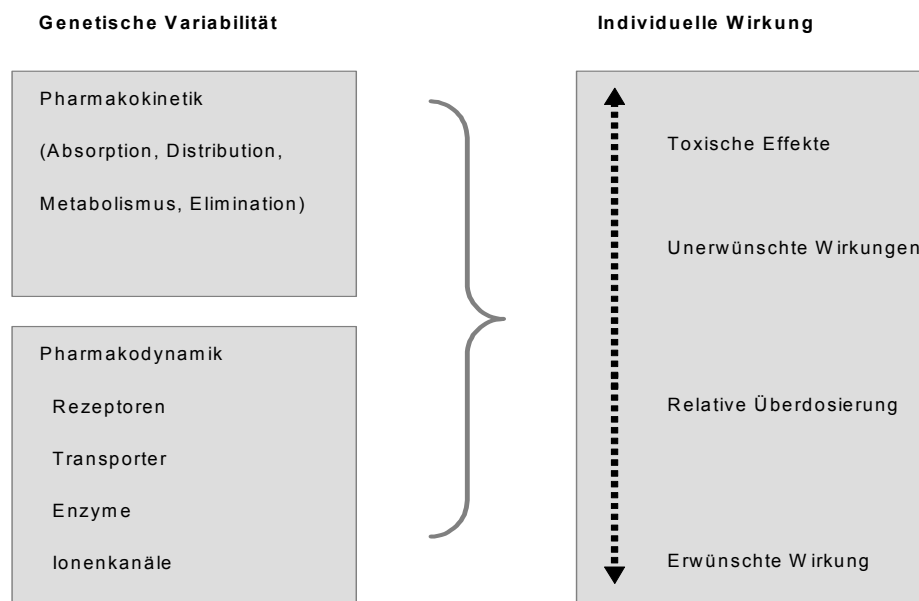
(*Ultrarapid-Metabolizers*) entspricht der Anzahl (0, 1, 2 oder > 3) der aktiven Allele (Brockmüller et al., 2000). Dabei korreliert die Anzahl der funktionstüchtigen Allele mit der Metabolisierungsaktivität. Die Prävalenz der einzelnen Allele weist eine hohe Variabilität zwischen den Bevölkerungsgruppen auf. In der kaukasischen Bevölkerung zum Beispiel finden sich etwa 7% *Poor-Metabolizer* (Sachse et al., 1997) und 3% *Ultrarapid-Metabolizer* (Dahl et al., 1995). Etwa 40% sind heterozygote Allelträger und entsprechen *Intermediate-Metabilizern*, die restlichen Individuen (ca. 50%) sind *Extensive-Metabolizer* mit zwei aktiven Allelen. Die Häufigkeit der CYP2D6-Genduplikation weist einen deutlichen Nord-Süd-Gradienten auf. In südeuropäischen Ländern (Italien, Spanien, Türkei) sind bis zu 10% der Bevölkerung UMs (Scordo et al., 2004, Agundez et al., 1995, Aynacioglu et al., 1999), in Äthiopien bis zu 29% (Aklillu et al., 1996). Die asiatische Bevölkerung weist zu etwa 50% das Allel CYP2D6\*10 mit verminderter Enzymaktivität auf (Bradford, 2002), Varianten mit defizienter Aktivität treten dafür kaum auf.

Es hat sich herausgestellt, dass seit der Aufklärung der molekulargenetischen Basis von CYP2D6-Polymorphismen eine Vorhersage der phänotypischen Metabolisierungskapazität möglich ist (De Morais et al., 1990, Heim und Meyer, 1996, Sachse et al., 1997, Griese et al., 1998). Die Sensitivität der Genotypisierung bezüglich der Vorhersage des PM-Phänotyps in der kaukasischen Population liegt bei > 99% bei der Bestimmung der häufig vorkommenden (\*3, \*4, \*6 und \*5) inaktiven Allele (McElroy et al., 2000, Griese et al. 1998, Sachse et al., 1997). Die Genotyp/Phänotyp-Relation für die schnellen und intermediären Metabolisierer unterliegt stärkeren Überschneidungen (Brockmüller et al., 2000, Mc Elroy et al., 2000). Hier kann eine Einteilung in sieben CYP2D6-Gruppen unter Berücksichtigung der Allele mit verminderter Aktivität (\*9, \*10, \*17 und \*41) für die Messung der Feinaktivität in der EM- und IM-Gruppe sinnvoll sein. Die Anwendung eines Scores von 0,5 für diese Allele führt zu einer Klassifizierung von 7 statt 4 CYP2D6-Gruppen mit 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 und 3 aktiven Allelen (Kirchheiner et al., 2004). Auch die Berechnung einer semiquantitativen Gendosis von 1 für funktionelle, 0 für komplett inaktive Allele und 0,5 für Allele mit verminderter Aktivität nach der Methode von Steimer et al., 2004, erlaubt die Differenzierung bezüglich der Feinaktivität in der EM- und IM-Gruppe.

In der Gruppe der Ultraschnell-Metabolisierer wird die Amplifikation von funktionellen Genen generell mit dem UM-Phänotyp assoziiert; es konnten aber nur bei 10-20% der phänotypischen Ultraschnell-Metabolisierern eine Genamplifikation nachgewiesen werden (Sachse et al., 1997, Griese et al., 1998, Zanger et al., 2001, Bergmann et al., 2001).

### 1.2.3 Das Cytochrom-P450-Enzymsystems im Kontext mit anderen Einflussfaktoren auf den Arzneimittelmetabolismus

Der Einfluss der genetischen Variabilität auf die individuelle Wirkung eines Medikamentes umfasst sowohl die Seite der Pharmakokinetik mit den Enzymen der Biotransformation als auch die Seite der Pharmakodynamik. Das Spektrum reicht dabei von der erwünschten Wirkung eines Medikamentes bis hin zu toxischen Effekten aufgrund einer Überdosierung (Abb. 1).



**Abbildung 1: Zusammenspiel pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Strukturen als Ursachen für Variabilität in der Arzneimittelwirkung (Kirchheiner et al., Habilitationsschrift)**

Neben der genetischen Variabilität existieren weitere wichtige Einflussfaktoren, die für die individuellen Unterschiede in der Arzneimittelwirkung verantwortlich sind (Tab.2).



Tabelle 2: Individuelle Faktoren, die die Arzneimittelwirkung beeinflussen

| Physiologie | Pathophysiologie                      | Genetik   | Umweltfaktoren | Arzneimittelinteraktionen |
|-------------|---------------------------------------|---|----------------|---------------------------|
| Alter       | Leberfunktion                         | Metabolismus                                    | Rauchen        | pharmakokinetisch         |
| Geschlecht  | Nierenfunktion                        | Rezeptoren                                      | Alkoholkonsum  | pharmakodynamisch         |
| Größe       | Herz-Kreislauf-<br>funktion           | Transporter                                     | Ernährung      |                           |
| Gewicht     | Lungenfunktion<br>Begleiterkrankungen | Ionenkanäle<br>Zielenzyme<br>Signaltransduktion | Umwelttoxine   |                           |

Um eine patientenorientierte Behandlung gewährleisten zu können, müssen individuelle Faktoren wie Alter des Patienten, Gewicht, Geschlecht und Begleiterkrankungen (v.a. Leber-, Nieren- und Herzerkrankungen) berücksichtigt werden. Neben dem Lebensstil und der Ernährung können der Konsum von Alkohol und Zigaretten zu Veränderungen im Arzneistoffwechsel führen. Nahrungsbestandteile wie z.B. im Grapefruitsaft enthaltende Stoffe haben eine hemmende Wirkung auf das metabolisierende P450-Enzymsystem (Ho et al., 2001). Im Rahmen von Komorbidität ist auf Arzneimittelwechselwirkungen besonders zu achten. Unterschieden werden dabei pharmakokinetische und -dynamische Arzneimittelinteraktionen. Auf der Ebene der Pharmakokinetik kommt vor allem der Enzyminduktion und -Inhibition eine wichtige Bedeutung zu, die einen großen Einfluß auf das Auftreten von unerwünschten Begleiterscheinungen und/oder eine fehlende therapeutische Effizienz zu haben scheint (Ingelman-Sundberg, 2001).

Viele Substrate sind bereits bekannt, die die Aktivität von CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9 induzieren oder hemmen. Eine Übersicht geben die folgenden Tabellen.

Tabelle 3: Inhibitoren und Induktoren von CYP2D6

| Substanzklasse                        | Inhibitoren   | Induktoren               |
|---------------------------------------|---|--------------------------|
| Antidepressiva                        | Fluoxetin, Sertralin, Clomipramin, Moclobemid, Norfluoxetin, Paroxetin  |                          |
| Neuroleptika                          | Levomepromazin, Chlorpromazin, Melperon, Thioridazin, reduziertes Haloperidol   |                          |
| Andere psychotrop wirkende Substanzen | Bupropion, Kokain, Methadon,  |                          |
| Internistische Medikamente            | Amiodaron, Chinidin, Ranitidin, Ritonavir, Celecoxib, Doxorubicin, Halofantrin, Metoclopramid, Histamin-H1-Rezeptorantagonisten | Rifampicin, Dexamethason |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2D6-Inhibitoren und -Induktoren nach Benkert und Hippus, 2003, [www.http://medicine.iupui.edu/flockhart](http://medicine.iupui.edu/flockhart)

Tabelle 4: Inhibitoren und Induktoren von CYP2C9

| Substanzklasse               | Inhibitoren                      | Induktoren   |
|------------------------------|----------------------------------|--------------|
| Antidepressiva (SSRIs)       | Fluvoxamin, Sertralin, Paroxetin |              |
| Sulfonylharnstoffe           | Sulfaphenazol                    |              |
| K <sup>+</sup> -Kanalblocker | Amiodaron                        |              |
| HMG-CoA-Reduktasehemmer      | Fluvastatin, Lovastatin          |              |
| Antituberkulotika            | Isoniazid                        | Rifampicin   |
| Analgetika                   | Phenylbutazon, Probenecid        |              |
| Antibiotika/ Antimykotika    | Trimetoprim, Fluconazol          |              |
| Barbiturate                  |                                  | Secobarbital |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2C9-Inhibitoren und -Induktoren nach <http://medicine.iupui.edu/flockhart>

Tabelle 5: Inhibitoren und Induktoren von CYP2C19

| Substanzklasse            | Inhibitoren                      | Induktoren   |
|---------------------------|----------------------------------|--------------|
| Antidepressiva (SSRIs)    | Fluoxetin, Paroxetin, Fluvoxamin |              |
| Antikonvulsiva            | Felbamat, Topiramat              | Carbamazepin |
| Protonenpumpenhemmer      | Omeprazol, Lansoprazol           |              |
| H2-Rezeptorenblocker      | Cimetidin                        |              |
| Antituberkulotika         |                                  | Rifampicin   |
| Antibiotika/ Antimykotika | Chloramphenicol, Ketoconazol     |              |
| Analgetika                | Probenecid                       |              |
| Antikoagulanz             | Ticlopidin                       |              |
| Psychoanaleptikum         | Modafinil                        |              |
| Glukokortikoid            |                                  | Prednison    |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2C19-Inhibitoren und -Induktoren nach <http://medicine.iupui.edu/flockhart>

So kann beispielsweise ein CYP2D6-Ultraschnell-Metabolisierer aufgrund inhibitorisch wirkender Komedikation keine erhöhte Enzymaktivität aufweisen und bei einer Dosiserhöhung ebenso wie ein CYP2D6-Langsam-Metabolisierer zu einer Überdosierung neigen. Auf der anderen Seite kann die Gabe von Paroxetin an einen CYP2D6-Ultraschnell-Metabolisierer die Enzymaktivität verlangsamen bzw. normalisieren (Laine et al., 2001). Vor allem bei einer längerfristigen medikamentösen Behandlung, wie es bei der Therapie mit Antidepressiva und Neuroleptika in der Regel der Fall ist, spielen diese Faktoren eine bedeutende Rolle.

#### 1.2.4 Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2C9

Die Bedeutung von CYP2C9 im Arzneistoffwechsel des Menschen wurde erst relativ spät erkannt, obwohl aus *In-vitro*-Studien bereits zahlreiche Substrate dieses Enzyms, wie nicht-steroidale Antiphlogistika, orale Antidiabetika, orale Antikoagulantien sowie Losartan und Phenytoin bekannt waren (Miners und Birkett, 1998). Für die interindividuellen Unterschiede in der Pharmakokinetik von trizyklischen Antidepressiva spielen CYP2C9-Polymorphismen bisher nur eine untergeordnete Rolle. Der Nachweis einer Beteiligung am Abbau von Amitriptylin und Fluoxetin basiert auf *In-vitro*-Untersuchungen (Ghahramani et al., 1997, von Moltke et al., 1997, Ring et al., 2001). Nur geringe Unterschiede in der Kinetik von Doxepin und Trimipramin zwischen Trägern des Wildtyps (CYP2C9\*1) und der Allelvariante (CYP2C9\*3) zeigten *In-vivo*-Untersuchungen (Kirchheiner et. al., 2002, Kirchheiner et al., 2002). Es

wurde kein Zusammenhang zwischen dem CYP2C9-Genotyp und der Antidepressiva-Plasmakonzentration im Rahmen eines klinisch-naturalistischen Studiendesigns gefunden (Grasmäcker et al., 2004). Eine Übersicht über die von CYP2C9 verstoffwechselten Substrate gibt die Tabelle 6.

Tabelle 6: CYP2C9-Substrate

| Substanzklasse                         | Vertreter  |
|--|--|
| Nichtsteroidale Antiphlogistika        | Diclofenac, Ibuprofen, Meloxicam, Piroxicam, Indometacin, S-Naproxen |
| Cumarine                               | S-Warfarin   |
| Antiepileptika                         | Phenytoin  |
| Antidepressiva                         | Amitryptilin, Fluoxetin  |
| Orale Antidiabetica/ Insulinsensitizer | Tolbutamid, Glipizid, Rosiglitazon                                   |
| Angiotensin-2-Rezeptorantagonisten     | Losartan, Irbesartan   |
| HMG-CoA-Reduktasehemmer                | Fluvastatin  |
| Schleifendiuretika                     | Torasemid  |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2C9-Substrate (Brockmöller et al., 2000; [http:// medicine.iupui.edu/flockhart](http://medicine.iupui.edu/flockhart))

Die 2C-Subfamilie besteht neben dem Cytochrom-P450-Enzym 2C9 aus drei weiteren Isoenzymen (2C8, 2C18 und 2C19). Die entsprechenden Gene befinden sich auf dem Chromosom 10 in der Region 10q24.1-24.3 (Guengerich, 1995, Gray et al., 1995, Meehan et al., 1988). Trotz einer 82%-igen Übereinstimmung in ihrer Aminosäuresequenz gibt es nur wenige Überschneidungen in der Substratspezifität (Wrighton und Stevens, 1992). Mit einem 20%-igen Anteil der Subfamilie 2C am Cytochrom-P450-Gesamtgehalt der Leber (Shimada et al., 1994) trägt sie bis zu etwa 18% am Medikamentenstoffwechsel bei (Wolf und Smith, 1999). Das Enzym CYP2C9 ist primär in der Leber lokalisiert, es stellt hier mit 60% den Großteil der vier Isoenzyme (Goldstein und de Morais, 1994), in deutlich geringeren Mengen ist es im Intestinum lokalisiert (de Waziers et al., 1990). Das Hämprotein aus 480 Aminosäuren und einer Masse von ca. 52kDa (De Morais et al., 1993) besitzt zur Erkennung der zu verstoffwechselnden Substrate insgesamt sechs Substraterkennungsstellen (SRS, *Substrate recognition sites*) (Gotoh, 1992). Ein Austausch von nur einer Aminosäure in diesem Bereich kann die Affinität des Enzyms zu seinem Substrat entscheidend beeinflussen (Veronese et al., 1993). Nach Einzelfallberichten über verlängerte Tolbutamid-Halbwertszeiten (Kreeger, 1962, Bird und Schwalbe, 1965) und Intoxikationserscheinungen unter der Behandlung mit Phenytoin (Kutt et al., 1964) konnte im weiteren Verlauf das verantwortliche Enzym, CYP2C9, identifiziert werden (Relling et al., 1990). Neben dem Wildtyp (CYP2C9\*1) existieren weitere Mutationen (Goldstein et al., 1994, <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/>

[cyp2c9.htm](#)). Davon haben sich bisher nur zwei Allelvarianten als relevant für den Arzneimittelstoffwechsel erwiesen (Veronese et al., 1993, Sullivan-Klose et al., 1996, Bhasker et al., 1996, Inoue et al., 1997). Eine Übersicht gibt die folgende Tabelle.

Tabelle 7: CYP2C9-Allelnomenklatur

| Enzym    | Allelvariante | Mutation (AS-Austausch)                 | Konsequenz   | Enzymaktivität ( <i>In-vitro</i> )         |
|----------|---------------|---|--|--|
| CYP2C9.1 | CYP2C9*1      | Wildtyp<br>( <i>Arg&gt;144/Ile359</i> ) |  | Normal                                     |
| CYP2C9.2 | CYP2C9*2      | <i>Arg&gt;144Cys</i>                    | Reduzierte Affinität zur Cytochrom-P450-Oxidoreduktase | Vermindert                                 |
| CYP2C9.3 | CYP2C9*3      | <i>Ile&gt;359Leu</i>                    | Veränderte Substratspezifität                          | Höhere $K_m$ und/oder niedrigere $V_{max}$ |

Allelnomenklatur nach <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/cyp2c9.htm>, Crespi und Miller, 1997 und Haining et al., 1996

Bei Kaukasiern kommt das Wildtyp-Allel CYP2C9\*1 in einer Häufigkeit von 79-86% vor. Das Allel CYP2C9\*2 liegt im Bereich von 8-13% und das Allel CYP2C9\*3 im Bereich von 3-9% (Sullivan-Klose et al., 1996, Bhasker et al., 1997, Stubbins et al., 1996 und Inoue et al., 1997). Es bestehen erhebliche interethnische Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit von CYP2C9-Polymorphismen. Die CYP2C9\*3-Allelvariante weist in Abhängigkeit vom untersuchten Substrat nur eine Enzymaktivität von 10-30% im Vergleich zum Wildtyp-Enzym auf (Brockmöller et al., 2000, Kidd et al., 1999, Sullivan-Klose et al., 1996, Steward et al., 1997). Das Ausmaß der Aktivitätsminderung im Fall von CYP2C9\*2 ist bisher nicht geklärt (Miners und Birkett, 1998); sie scheint laut pharmakokinetischen und *In-vitro*-Untersuchungen nur knapp unterhalb der Norm zu liegen (Sullivan-Klose et al., 1996, Bhasker et al., 1997). Die phänotypische Fähigkeit CYP2C9-Substrate verstoffwechseln zu können, wird durch die Kombination zweier genotypisch bestimmbarer Allele festgelegt. Der Phänotyp (EM, IM oder PM) ergibt sich aus den Kombinationen der Allele (Brockmöller et al., 2000). Eine Vorhersage der Funktionalität ist aber wesentlich unschärfer, als es bei Allelvarianten mit vollständigem Aktivitätsverlust der Fall ist.

### 1.2.5 Das polymorphe Cytochrom (CYP) 2C19

Ein weiteres polymorphes Enzym mit Bedeutung für die Pharmakokinetik vieler Arzneimittel ist das Cytochrom-P450-Enzym 2C19. Es verstoffwechselt neben Protonenpumpenhemmer,

Benzodiazepinen und Phenytoin (Desta et al., 2002) auch einige Antidepressiva und Antipsychotika. Einen Überblick über die betreffenden Substrate gibt die folgende Tabelle.

Tabelle 8: CYP2C19-Substrate

| Substanzklasse           | Vertreter  |
|--------------------------|--|
| Protonenpumpenhemmer     | Omeprazol, Lansoprazol, Pantoprazol  |
| Antikonvulsiva/ Sedativa | S-Mephenytoin, Diazepam, Primidon, Flunitrazepam, Phenobarbital                                |
| Antidepressiva           | Amitriptylin, Clomipramin, Imipramin, Trimipramin, Doxepin, Moclobemid, Sertralin, Citalopram, |
| Zytostatika              | Cyclophosphamid  |
| Antiretrovirale Pharmaka | Nelfinavir   |
| Antimalariamittel        | Proguanil  |
| Beta-Blocker             | Propranolol  |

Nach Substanzklassen geordnete CYP2C19-Substrate nach Brockmöller et al., 2000, Kirchheiner et al., 2003, <http://medicine.iupui.edu/flockhart>)

Wie das CYP2C9 gehört CYP2C19 zu der Cytochrom-P450-2C-Subfamilie. Von den vier Isoenzymen weist es die geringste Konzentration in der Leber auf und besitzt nur einen Anteil von 1% an der Gesamtmenge der CYP2C-Enzyme (Goldstein und De Morais, 1994). Trotz einer 96%igen Homologie in der Aminosäuresequenz zu CYP2C9 besitzen beide Isoenzyme nur eine geringe Überschneidung hinsichtlich ihrer Substratspezifität (Wrighton und Stevens, 1992). Die Identifizierung des S-Mephenytoin-4'-Hydroxylation-Enzyms als CYP2C19 gelang erstmalig vor ca. 10 Jahren (Wrighton et al., 1993). Als einziges Isoenzym weist es eine stereoselektive Hydroxylierung von S-Mephenytoin auf (Goldstein et al., 1994). Aufgrund der unterschiedlichen Biotransformationseigenschaften des S- und R-Enantiomers (Küpfer et al., 1984, Meier et al., 1985) eignet sich S-Mephenytoin besonders gut als „probe-drug“ für CYP2C19-Phänotypisierungsuntersuchungen. Die Halbwertszeit von R-Mephenytoin ist bei *Extensive-Metabolizern* (EMs) 7-12-mal länger als die von S-Mephenytoin.

Dieser stereoselektive Unterschied ist bei *Poor-Metabolizern* (PMs) nicht vorhanden. Die Folge kann eine Akkumulation von S-Mephenytoin und anderen von CYP2C19 verstoffwechselten Substraten sein mit einer ansteigenden unerwünschten Nebenwirkungsrate (Küpfer und Preisig, 1984, Küpfer et al., 1984b). Verantwortlich für den Status des *Poor-Metabolizers* sind genetische Varianten, die für ein Enzym mit fehlender Aktivität kodieren. Fünfzehn verschiedene Allele sind bisher identifiziert ([http://www.imm.ki.se/CYPalleles/\\_html](http://www.imm.ki.se/CYPalleles/_html)), von denen die Allele CYP2C19\*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*7 und \*8 keine *In-vivo*-Enzymaktivität besitzen. Aufgrund des seltenen Vorkommens der meisten genetischen Varianten

besitzen in der kaukasischen Bevölkerung nur das CYP2C19\*2-Allel (De Morais et al., 1994) und bei Asiaten zusätzlich das CYP2C19\*3-Allel (De Morais, 1994b) klinische Relevanz. Die Einteilung in EMs, IMs und PMs entspricht der Anzahl der aktiven Allele (Brockmöller et al., 2000, Wedlund et al., 2000). Eine Übersicht über die beiden häufigen Mutationen gibt die Tabelle 9.

Tabelle 9: CYP2C19-Allelnomenklatur

| Enzym     | Allelvariante | Nukleotid-<br>Veränderung | Konsequenz   | Enzymaktivität |
|-----------|---------------|---------------------------|--|----------------|
| CYP2C9.1  | CYP2C19*1     | Keine                     | Wildtyp  | normal         |
| CYP2C9.2  | CYP2C19*2     | <i>G&gt;681A</i>          | Verlust der Schnittstelle in Exon 5; vorzeitiges Stop-Codon mit verkürztem Protein | inaktiv        |
| CYP2C19.3 | CYP2C19*3     | <i>G636&gt;A</i>          | Vorzeitiges Stop-Codon mit verkürztem Protein                                      | inaktiv        |

Allelnomenklatur nach <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/cyp2c9.html>, De Morais et al., 1994

2-5% der Kaukasier (Wilkinson et al., 1989, Alvan et al., 1990, Bertilsson et al., 1992, Xie et al., 1999) und 18-23% der Japaner (Nakamura et al., 1985, Jurima et al., 1985) weisen eine funktionelle Defizienz (PM) der S-Mephenytoin-4'-Hydroxylation auf. Die Häufigkeit des CYP2C19-PM-Phänotyps stimmt bei den Japanern über 99% mit dem Vorhandensein der beiden Allelvarianten CYP2C19\*2 (homozygot: CYP2C19\*2/\*2) oder CYP2C19\*3 (heterozygot: CYP2C19\*2/\*3) überein. In der kaukasischen Bevölkerung erklären sie nur ca. 88% der *Poor-Metabolizer*-Allele (Ferguson et al., 1998). Die Frequenz der CYP2C19\*3-Variante beträgt 0,3%. Das ebenfalls seltene \*4-Allel tritt mit einer Häufigkeit von 0,6% in der kaukasischen Population auf. In der Arbeit von Ferguson et al., 1998, wurde das \*4-Allel bei 2 von 37 kaukasischen PMs detektiert.

Die Anwendung der Genotypisierung für CYP2C19 in der klinischen Praxis hängt vom therapeutischen und ökonomischen Nutzen ab. Sie ist gut vorstellbar bei der Behandlung mit Medikamenten mit geringer therapeutischer Breite (z.B. Antiepileptika oder Antidepressiva) und in Populationen mit einem prozentual höheren PM-Anteil (z.B. im orientalischen Raum). In einer japanischen Studie wurde eine bessere Heilungsrate (100%) für PM-Patienten mit *Helicobacter pylori* Infektion unter medikamentöser Therapie mit Omeprazol festgestellt.

Angenommen wird dabei ein Zusammenhang zwischen der Heilungsrate und dem Plasmaspiegel von Omeprazol in Abhängigkeit vom Metabolisierungsstatus (Furuta et al., 1999).

Ebenso wurde unter Mephenytoin-Gabe eine stärkere Sedierung bei asiatischen Patienten und bei denen, die keine CYP2C19-Enzymaktivität haben, beobachtet (Küpfer et al., 1984, Setiabudy et al., 1992).

Dosisanpassungen geben bei einigen Antidepressiva eine Reduktion von bis zu 60% für *Poor-Metabolizer* an (Kirchheiner et al., 2001).

### **1.3 Herleitung der Aufgabenstellung**

Diese Arbeit befasst sich mit dem Einfluss von CYP2D6-, CYP2C9- und CYP2C19-Polymorphismen auf den Erfolg und die Nebenwirkungsrate der medikamentösen Depressionsbehandlung. Zielsetzung war zu untersuchen, ob Unterschiede in der Pharmakokinetik von Antidepressiva, wie sie durch Cytochrom-P450-Enzym polymorphismen verursacht werden, unter normalen klinischen Bedingungen Auswirkungen auf den Erfolg der antidepressiven Therapie, Nebenwirkungen und den Verlauf der depressiven Erkrankung haben.

In dieser Arbeit ist

- 1:** die Häufigkeitsverteilung der CYP2D6-, CYP2C9- und CYP2C19-Allele in der an Depression erkrankten Studienpopulation im Vergleich zur Normalbevölkerung,
- 2:** ein möglicher Zusammenhang zwischen der Art und Schwere der Depression und dem Genotyp,
- 3:** das therapeutische Ansprechen (Kurz- und Langzeitverlauf) der Erkrankung auf die Antidepressivabehandlung in Abhängigkeit vom Genotyp und
- 4:** der Einfluss des Genotyps auf das Auftreten von medikamentösen Nebenwirkungen untersucht worden.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die Studie stellte eine prospektive Anwendungsbeobachtung dar, in der sowohl die Wirksamkeit als auch die Nebenwirkungsrate von Antidepressiva in Abhängigkeit vom Metabolisierungsstatus beobachtet werden sollte. Die Studie war insofern geblindet, als dass die Genotypen weder dem behandelnden Arzt noch dem Patienten für die Dauer der Studie mitgeteilt wurden. Die verschriebenen Medikamente waren die krankenhausüblichen Medikationen bekannter, sich auf dem Markt befindlicher Antidepressiva. Zusatzmedikationen waren grundsätzlich erlaubt und wurden ebenfalls dokumentiert. Jedem Studienteilnehmer war es möglich, zu jedem Zeitpunkt der Studie die Teilnahme ohne Angabe von Gründen zu beenden. Primär mit der Teilnahme einverständene Patienten konnten später aus der Studie ausgeschlossen werden, wenn sich im Verlauf der Behandlung die Diagnose änderte oder wenn andere gravierende Umstände eine weitere Teilnahme verhinderten. Die Patientendaten wurden in pseudoanonymisierter Form erhoben, in eine *Access®*-Datenbank eingegeben und mittels *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences)* deskriptiv statistisch ausgewertet. Jeder Patient erhielt eine individuelle Codenummer, die computergesteuert verwaltet und gespeichert wurde. Die Zuordnung von Patient zu Code war nur den im Krankenhaus arbeitenden Ärzten bekannt und wurde nicht an die datenverwaltende Stelle (Institut für Klinische Pharmakologie) weitergegeben. Ein Datenzugriff anderer Personen als den behandelnden Ärzten des jeweiligen Krankenhauses war nur zum Zweck der Auswertung der Studienziele gestattet.

#### 2.1.1 Patientenauswahl

Im Rahmen dieser Studie zur Optimierung der Arzneimitteltherapie mit Antidepressiva durch die molekulargenetische Bestimmung individueller genetischer Unterschiede sind für die Patienten Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt worden. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in vier Berliner Kliniken von den dort zuständigen Studienärzten. Dabei handelte es sich um das Universitätsklinikum Charité, Abteilung für Psychiatrie, das Krankenhaus am Urban, Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie, das Krankenhaus Hellersdorf, Erste und Zweite Psychiatrische Abteilung (ö.B. Wilhelm-Griesinger-Krankenhaus) und die Gemeindepsychiatrische Klinik Wilmersdorf (ö.B. Eschenallee). Die molekulargenetischen Laboranalysen wurden am Universitätsklinikum Charité im Institut für Klinische Pharmakologie

---

durchgeführt. Das Institut für Klinische Pharmakologie an der Universität in Göttingen war für die Bestimmung der Serumkonzentration zuständig.

#### **2.1.1.1 Einschlusskriterien**

Bei den untersuchten Patienten handelte es sich um primär depressive Patienten, die aufgrund ihrer Krankheit in eine Klinik aufgenommen und dort stationär mit Antidepressiva behandelt wurden. Die Diagnosestellung erfolgte durch die Kurzversion des strukturierten klinischen Interviews für DSM-IV, SKID I (Wittchen et al., 1991). Die Durchführungszeit beträgt etwa 60 Minuten. Einen Überblick über die Einschlussdiagnosen gibt die Tabelle 10.

Tabelle 10: Einschlussdiagnosen

| <b>Diagnose</b>                                     | <b>ICD10</b>   | <b>DSM-IV</b>   |
|---|--|---|
| <b>Major Depression</b>                             | Leichte depressive Episode (F32.0)<br>Mittelgradige depressive Episode (F32.1)<br>Schwere depressive Episode ohne psychotische Symptome (F32.2)<br>Schwere depressive Episode mit psychotischen Symptomen (F32.3)<br>Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig leichte Episode (F33.0)<br>Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig mittelgradige Episode (F33.1)<br>Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode ohne psychotische S. (F33.2)<br>Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode mit psychotischer Symptomatik (F33.3) | Major Depression, einzelne Episode (296.2)<br>Major Depression, rezidivierend (296.3)                 |
| <b>Bipolare Störung (I, II)</b>                     | Gegenwärtig mittelgradige oder leichte depressive Episode (F31.3)<br>Gegenwärtig schwere depressive Episode ohne psychotische Symptomatik (F31.4)<br>Gegenwärtig schwere depressive Episode mit psychotischer Symptomatik (F31.5)  | Bipolar I Störung, letzte Episode depressiv (296.5)<br>Bipolar II Störung (296.89)                    |
| <b>Nicht näher bezeichnete depressive Störung</b>   | Nicht näher bezeichnete depressive Episode (F32.9)<br>Sonstige rezidivierende depressive Störung (F33.8)<br>Nicht näher bezeichnete depressive Störung (F33.9)<br>Sonstige bipolare affektive Störung (F31.8)<br>Nicht näher bezeichnete bipolare affektive Störung (F31.9)<br>Sonstige affektive Störung (F38)<br>Nicht näher bezeichnete affektive Störung (F39)   | Nicht näher bezeichnete depressive Störung (311)<br>Nicht näher bezeichnete bipolare Störung (296.80) |
| <b>Anpassungsstörungen mit depressiver Stimmung</b> | Anpassungsstörung (F43.2)<br>Anpassungsstörung, verlängerte depressive Reaktion (F43.21)   | Anpassungsstörung mit depressivem Inhalt (309.0)  |
| <b>Angststörung (mit depressiver Symptomatik)</b>   | Andere Angststörung (F41)<br>Generalisierte Angststörung (F41.2)<br>Angst und depressive Störung gemischt  | Generalisierte Angststörung (300.02)  |

### 2.1.1.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden sämtliche Patienten unter 18 oder über 70 Jahren und Patienten mit primär nicht affektiven Erkrankungen. Dazu gehören postpsychotische depressive Phasen, organische depressive Störungen, depressive Störung bei Demenz, psychische Verhaltensstörungen durch psychotrope Substanzen, schizoaffektive Störungen und Persönlichkeitsstörungen. Auch Patienten, die primär an einer Alkohlerkrankheit litten, wurden nicht in die Studie

aufgenommen. Ein weiteres Ausschlusskriterium war die Behandlung mit einem nicht medikamentösen Therapieverfahren oder mit nicht als Antidepressiva zu bezeichnenden Medikamenten.

### **2.1.2 Stationärer Ablauf der Studie**

Die Blutabnahme zur Genotypisierung (2 x 8ml EDTA-Blut) am 1.-3. Tag sowie zur Medikamentenspiegelmessung (je 8ml pro Substanz) am 20.-22. Tag erfolgten wenn möglich im Rahmen der üblichen Routine-Blutentnahmen. Die Therapieeffizienz bzw. die Wirksamkeit der medikamentösen antidepressiven Therapie wurden mittels der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS), der *Clinical Global Impression Scale* (CGI) und der *Global Assessment Scale* (GAS) dokumentiert. Als ausschlaggebenden Parameter für eine Therapieresponse wurde ein Abfall um mindestens sieben Punkte in der HDRS, eine Erhöhung der Punktwerte in der GAS sowie eine Verbesserung auf möglichst niedrige Items in der CGI festgelegt. Diese Testverfahren wurden zu Beginn der Studie, am 20.-22. Tag und (mit Ausnahme der CGI) zwei Monate nach Entlassung des Patienten durchgeführt. Im Hinblick auf die Arzneimittelsicherheit wurden unerwünschte Nebenwirkungen (UAWs) sowohl in einer Selbstbeurteilungsskala als auch in einer Fremdbeurteilungsskala durch den Studienarzt erfasst. Um mögliche kardiale Begleiterscheinungen aufzuzeichnen, wurde bei Aufnahme und während der Therapie jeweils ein EKG geschrieben und der Blutdruck an drei hintereinander folgenden Tagen im Liegen gemessen. Änderungen des Körpergewichtes wurden im Verlauf der Studie dokumentiert ebenso wie Auffälligkeiten im Routine-Labor (v.a. Blutbild und Leberwerte). Die Erhebung notwendiger Grunddaten wie Krankheitsvorgeschichte, berufliche Tätigkeit, sonstige Erkrankungen, familiäre Belastung, Medikamenten- und Suchtanamnese erfolgte zu Beginn in einer ausführlichen Krankheitsanamnese. Eine Übersicht über den stationären Ablauf gibt die folgende Tabelle 11.

Tabelle 11: Zeitschema zur Durchführung des stationären Teils der Studie

| Tag nach Aufnahme/ Medikationsbeginn | Untersuchungen                           |
|--------------------------------------|--|
| Tag 1 (-3)                           | SKID I, HDRS, GAS, CGI, EKG              |
| Tag 2 (-4)                           | BE (G, P), GD, MS, M                     |
| Tag 20-22                            | BE (P), UAW 1, UAW 2, HDRS, CGI, MS, EKG |
| Katamnese                            | KB, HDRS, GAS                            |

SKID I: Kurzversion des SKID zur Diagnosesicherung; HDRS: Hamilton Depression Rating Scale; GAS: Global Assessment Scale; CGI: Clinical Global Impressions; BE: Blutentnahme; G: 2x8ml EDTA-Blut zur Genotypisierung; P: Plasmaspiegel je Antidepressivum 10ml Serum; GD: Grunddatenbogen, MS: Messungsblatt; UAW 1: Selbstbeurteilungsbogen für den Patienten, 1x wöchentlich auszufüllen; UAW 2: Fremdbeurteilungsbogen; M: Medikamentendokumentation; KB: Katamnesebogen

## 2.2 Genetische Analysen

### 2.2.1 DNA-Extraktion mittels Adsorption an Magnetpartikel

Für die DNA-Extraktion und die Genotypisierung wurde pro Patient eine EDTA-Monovette mit 5 ml venösem Blut benötigt. Der *MagNA-Pure* ist ein vollautomatisches Gerät. Durch die Zugabe vom *Lysis/Binding Buffer* kommt es zu einer kompletten Zellauflösung. Die Proteine werden denaturiert und die DNA liegt als freies Molekül vor. Die hinzugegebene Proteinase K ist für die Verdauung der zellulären Proteine verantwortlich. Der *Lysis/Binding Buffer* enthält chaotropische Salze und hat eine hohe ionische Stärke. Das ist die Voraussetzung für eine Bindung der DNA an die mit Siliziumdioxid beschichtete Oberfläche der Magnetpartikel. Der *Wash Buffer I* entfernt ungebundene Substanzen wie Proteine (Nukleasen), Zellmembranen etc. und PCR-Inhibitoren wie Heparin und Hämoglobin. Der *Wash Buffer II* entfernt Verunreinigungen (Zellreste) und vermindert die chaotropische Salzkonzentration. Im *Elution Buffer* wird die pure DNA bei erhöhter Temperatur gelöst. Nach ca. 90 Minuten ist die Extraktion abgeschlossen und die DNA liegt in 100µl *Elution Buffer* mit einer Endkonzentration zwischen 30-100 ng/µl gelöst vor. Die Überführung in die beschrifteten Eppendorfgefäße erfolgte anhand der Probenliste. Alle Reagenzien und Arbeitsmaterialien wurden von der Firma Roche geliefert (Tabelle 12).

Tabelle 12: Chemikalien und Lösungen zur DNA-Extraktion mittels Adsorption an Magnetpartikel

| Chemikalie / Lösung                        | Chemischer Vorgang             |
|--|--------------------------------|
| Wash Buffer 1                              | Entfernt PCR-Inhibitoren       |
| Wash Buffer 2                              | Entfernt Salze, Proteine usw.  |
| Lysis/Binding Buffer                       | Zellauflösung und DNA-Bindung  |
| Proteinase K                               | Verdau von Proteinen           |
| Magnetic Glass Particles (MGPs) Suspension | Bindung der DNA                |
| Elution Buffer                             | Lösungsmittel für die pure DNA |

### 2.2.2 Photometrische DNA-Quantifizierung

Nach der Extraktion am *MagNa-Pure*-Gerät wurde die DNA mit Hilfe des Eppendorf-BIO-Photometers und DPU-414 Druckers photometrisch quantifiziert. Verwendet wurden 50 µl der extrahierten Probe sowie 50 µl *Elution Buffer* als Leerwert. Neben der Konzentrationsbestimmung diente die photometrische Messung der Qualitätssicherung der Extrakte. Der Quotient der Extinktion bei 280/260 läßt auf die Qualität der isolierten DNA schließen und sollte zwischen 1,6 und 2,0 liegen.

## 2.3 Genotypisierung

Die Genotypisierung des polymorphen Cytochrom-P450-Enzyms 2D6, 2C19 und 2C9 anhand der aus Vollblut gewonnenen genomischen DNA erfolgte mittels der Polymerase-Kettenreaktion mit anschließendem Verdau durch Restriktionsendonukleasen und Auftrennung der einzelnen DNA-Abschnitte mittels Gelelektrophorese.

### 2.3.1 Polymerase - Kettenreaktion

Bei der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) handelt es sich um eine *In-vitro*-Methode, die mit Hilfe von DNA-Polymerasen gezielt einen DNA-Abschnitt amplifizieren kann. Voraussetzung dafür ist die Information über die Nukleotid-Sequenz beiderseits eines DNA-Abschnitts. An diesen können sich geeignete, d.h. komplementär zu der einsträngigen DNA-Matrize, Oligonukleotide (Primer) binden. Der erste Primer wird vom 5'-Ende in Richtung des 3'-Endes des ersten Stranges abgeleitet und Vorwärts-Primer genannt; der zweite Primer wird vom 5'-Ende in Richtung des 3'-Endes des Gegenstranges abgeleitet und Rückwärts-Primer genannt. Die PCR läuft temperaturgesteuert in *Thermocyclern* automatisch in Reaktionszyklen ab. Es werden 1 µl DNA mit DNA-Polymerase, Desoxyribonukleosidtriphosphaten (dATP, dCTP, dGTP und dTTP) und den beiden Primern in einem geeigneten Reaktionsgemisch inkubiert. Der folgende Zyklus, der 20-50mal wiederholt wird, besteht aus drei Schritten: Bei einer Temperatur von 94°C denaturiert der ursprüngliche DNA-Doppelstrang.

Nach Abkühlen und Erreichen der Anlagerungstemperatur („*annealing-temperature*“) bei 58-60°C hybridisieren die Primer im zweiten Schritt an die jeweils komplementäre DNA-Sequenz und bilden den Startpunkt für die DNA-Polymerase. Im dritten Schritt kann die DNA-Polymerase bei einer optimalen Temperatur von 72°C mit der Verlängerung der Primer beginnen und es entstehen neu synthetisierte DNA-Doppelstränge. Bei Wiederholung der Reaktionsfolge aus Denaturierung, Anhybridisierung der Primer und Verlängerung zu einem neuen DNA-Strang kommt es nach jedem Zyklus zur Verdopplung der DNA und damit zu einer exponentiellen, selektiven Amplifizierung der durch die Oligonukleotide begrenzten DNA-Sequenz (siehe Abb.2).

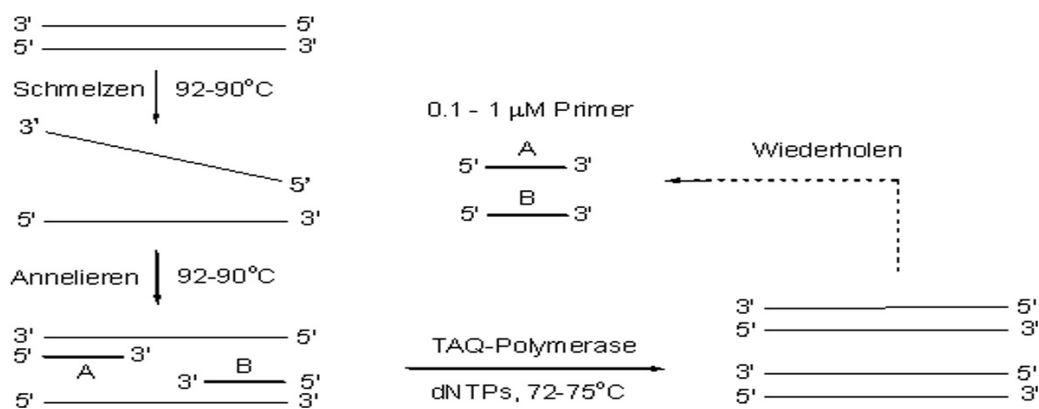


Abbildung 2: Schema einer Polymerase-Kettenreaktion

### 2.3.2 Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP)

Die PCR-Produkte wurden zum Zweck der RFLP-Analyse mit Restriktionsendonukleasen verdaut. Restriktionsendonukleasen sind Enzyme, die einen DNA-Abschnitt sequenzspezifisch an festgelegten Schnittstellen schneiden und DNA-Fragmente gleicher Länge produzieren. Wird durch eine Mutation die Nucleotid-Sequenz einer Schnittstelle verändert, kann die Restriktionsendonuklease das PCR-Produkt an dieser Stelle nicht schneiden und es entstehen Fragmente unterschiedlicher Länge (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus). Die unterschiedlichen Restriktionsmuster lassen auf den entsprechenden Genotyp schließen. Die Fragmente wurden anschließend in der Gelelektrophorese untersucht.

### 2.3.3 Bestimmung der CYP2D6-Allele

Zur Bestimmung der in dieser Arbeit untersuchten CYP2D6-Allele wurde eine *Nested-PCR*, bestehend aus zwei aufeinanderfolgenden PCRs, verwendet. Für die erste PCR wurde das

*Expand<sup>TM</sup> Long PCR System* (Fa.Boehringer Mannheim, Deutschland) verwendet, das mit einem Gemisch aus *Taq*- und *Pwo*-DNA-Polymerasen arbeitet und in der Lage ist, Fragmente bis zu einer Länge von 20kb zu amplifizieren. Um mögliche Fehlerquellen durch Koamplifikationen der beiden benachbarten homologen Pseudogene CYP2D7 und CYP2D8 zu vermeiden, wird zu Beginn das gesamte CYP2D6-Gen mit einer Länge von 4681bp amplifiziert. Im zweiten Schritt können mit Hilfe der *Nested*-PCR-Technik und spezifischer PCR-RFLP-Tests (Sachse et al., 1997) die einzelnen Punktmutationen nachgewiesen werden. Das spezifische PCR-Produkt aus der ersten Reaktion wird dabei verdünnt als Matrix für die nachfolgenden PCR-RFLP-Tests verwendet. Es folgt die Amplifikation eines bestimmten Genabschnitts durch den dazugehörigen Primer. Der amplifizierte Abschnitt wird anschließend durch Restriktionsendonukleasen entsprechend des Genotyps geschnitten.

Ebenfalls mit Hilfe des *Expand<sup>TM</sup> Long PCR Systems* wurden die Deletion (CYP2D6\*5) und die Duplikation (CYP2D6\*MxN) nachgewiesen. Durch eine allelspezifische PCR-Reaktion (Lovlie et al., 1996) wird mit Hilfe eines Forwärts-Primer in Exon 9 und eines Rückwärts-Primers in Exon 2 ein 9,3kb-Fragment bei Personen mit einer vorhandenen Duplikation (42kb-Allel) amplifiziert. Die Sequenz des 9,3kb-Fragments ist sowohl bei dem 42kb CYP2D6\*1-, als auch bei dem CYP2D6\*2-Allel identisch. Fällt die PCR-Reaktion positiv aus, handelt es sich um eine CYP2D6-Duplikation.

Bei der Deletion wird mit Hilfe der *Long*-Amplifikationstechnik nach der Methode von Steen et al., 1995a ein 3500bp langes PCR-Produkt nachgewiesen. Nach Verlust (Deletion) des gesamten CYP2D6-Gens liegt dieses innerhalb des verkürzten 13kb Allel.

Zur Kontrolle der PCR wurde sowohl das aus der *Long*-Amplifikation entstandene PCR-Produkt als auch die nachfolgenden PCR-Produkte aus den *Nested*-PCRs auf einem 1%igen Agarosegel aufgetragen und die Ergebnisse mittels Gelelektrophorese sichtbar gemacht. Die Bestimmung der Genotypen nach dem Verdau mit den Restriktionsendonukleasen erfolgte durch den Nachweis der entsprechenden Restriktionsmuster ebenfalls mittels Gelelektrophorese auf einem 3%igen Agarosegel. Alle Ergebnisse wurden mit dem digitalen Videosystem (*Eagleeye<sup>TM</sup>*, Fa. Stratagene) dokumentiert. Die schematische Darstellung der PCR-Strategie, abgeleitet aus der genomischen Lage und dem molekulargenetischen Aufbau des CYP2D6, der CYP2D6-Deletion und der CYP2D6-Duplikation ist der folgenden Abbildung zu entnehmen.



**CYP2D6**

Exon: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

1 2 3 4 5 6 7 8 9

CYP2D6 4681bp

\*41 1656bp

**CYP2D6**

Exon: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

\*10 418bp

\*17 319bp

353 bp

\*3 201bp

\*41 322bp

\*2 881bp

\*4/\*6/\*8

**CYP2D8**                      **CYP2D7**

**Exon:** 1 2 3 4 5 6 7 8 9                      1 2 3 4 5 6 7 8 9

\*5 (Deletion)                      3500bp

**CYP2D7** **CYP2D6-Dup** **CYP2D6**

\*MxN 5200bp \*MxN 3600bp

**Exon:** 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1 2 3 4 5 6 7 8 9

#### 2.3.4 Bestimmung der CYP2C9-Allele

Die beiden Allele CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3 sowie der Wildtyp CYP2C9\*1 wurden nachgewiesen durch PCR-RFLP-Tests (Sullivan-Klose et al., 1996, Aynacioglu et al., 1999). Die Mutation *C>432T* in Exon 3 des codierenden CYP2C9-Genabschnittes, verantwortlich für den Aminosäure-Austausch *Arg>144Cys*, wurde in einem 372bp umfassenden Abschnitt mit Hilfe spezifischer Primer amplifiziert und anschließend durch Zugabe eines Restriktionsenzym entsprechend ihres Genotyps gespalten. Die Bestimmung der Mutation *A>1077T* in

Exon 7, die den Aminosäureaustausch *Ile>359Leu* zur Folge hat, erfolgte auf die gleiche Weise. Zur Verhinderung einer Koamplifikation mit dem zu 96%igen homologen CYP2C19-Genabschnitt diente ein modifizierter CYP2C9 Intron-spezifischer Primer (Sullivan-Klose et al., 1996). Die Kontrolle der erfolgreichen Amplifikation erfolgte auf einem 1%igen Agarosegel. Die Genotypen wurden entsprechend ihres Restriktionsmusters nach Verdau mit den Restriktionsendonukleasen auf einem 3%igen Agarosegel sichtbar gemacht und die Ergebnisse mit dem digitalen Videosystem dokumentiert.

### 2.3.5 Bestimmung der CYP2C19-Allele

Die Mutation des CYP2C19\*2-Allel besteht aus einem einfachen Basenaustausch (*G>681A*) in der codierenden Sequenz im Exon 5 des CYP2C19-Gens, der zu einer veränderten Schnittstelle führt. Diese Mutation resultiert aus einem Verlust der Aminosäuren 215-227, verschiebt das Leseraster der mRNA beginnend bei der Aminosäure 215 und führt zu einem vorzeitigem Stop-codon 20 Aminosäuren weiter *downstream*. Das Ergebnis ist ein nicht funktionelles verkürztes Protein, bestehend aus 234 Aminosäuren (De Moraes et al., 1994). Der Nachweis des CYP2C19\*2-Allels erfolgte mit Hilfe eines PCR-RFLP-Tests. Durch den Verlust der Schnittstelle für das Restriktionsenzym *Sma*I unterschied sich das CYP2C19\*2-Allel von dem Wildtyp (CYP2C9\*1) anhand des nicht geschnittenen PCR-Produkts. Die Bestimmung des Genotyps sowie die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte entsprechend dem Nachweis der CYP2C9-Allele. Die PCR-Strategie ist in der Abbildung 4 dargestellt.

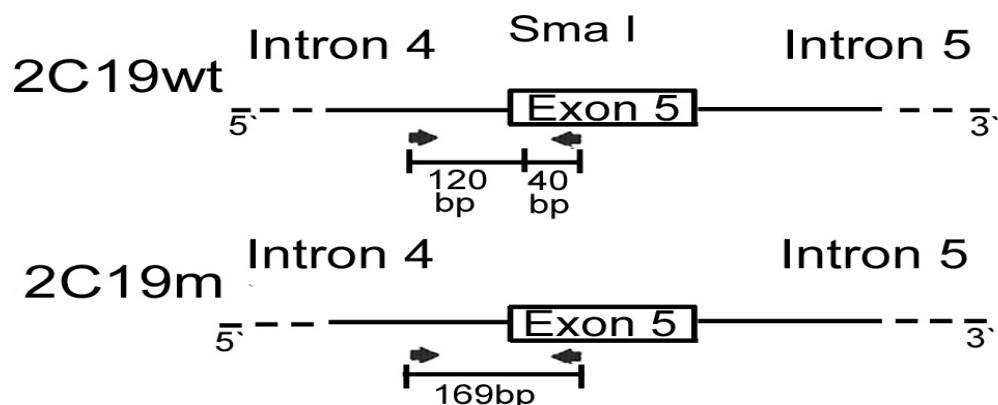


Abbildung 4: PCR-Strategie zum Nachweis des CYP2C19\*2-Allels

### 2.3.6 Material, Methoden, Ansätze und Reaktionsbedingungen für die PCR-RFLP-Tests

#### 2.3.6.1 Chemikalien, Puffer, Lösungen und Geräte für die PCR-RFLP-Tests

Tabelle 13: Chemikalien für die PCR-RFLP-Tests

| Chemikalie  | Hersteller                          |
|---|-------------------------------------|
| Expand <sup>TM</sup> Long PCR System              | Boehringer-Mannheim                 |
| dNTPs   | MBI Fermentas                       |
| DNA-Oligonukleotide (PCR-Primer)                  | MBI Fermentas                       |
| DNA Polymerase AmpliTaq <sup>TM</sup>             | Perkin Elmer                        |
| 10 x PCR-Puffer, 25 mM Cl                         |                                     |
| Restriktionsendonukleasen                         | MBI Fermentas, New England, Biolabs |
| Agarose ultrapure                                 | Biometra                            |
| 100 bp und 1 kb DNA-Marker, Marker 5 und Marker 6 | Boehringer-Mannheim                 |

Tabelle 14: Geräte für die PCR-RFLP-Tests

| Gerät   | Hersteller                      |
|---|---------------------------------|
| Thermocycler: GeneAmp PCR System 9600 und 9700                      | Perkin Elmer, Applied Biosystem |
| Videosystem: Eagleeye   | Stratagene                      |
| Zentrifugen   | Eppendorf, Beckmann, Sigma      |
| Inkubationsschränke   | Biometra                        |
| Halbautomatischer Schüttler   | Hoefer, Heidolph                |
| Flachbrett-Elektrophoresekammern und Elektrophorese-Spannungsgeräte | Pharmacia, Biorad, Hoefer       |

### 2.3.6.2 Primer für die PCR-Reaktionen

Tabelle 15: CYP2D6-, 2C9- und 2C19-Primer

| Primer                | Sequenz                            | Richtung |
|-----------------------|------------------------------------|----------|
| <b>CYP2D6</b>         |                                    |          |
| P100                  | 5'GGCCTACCCTGGGTAAGGGCCTGGAGCAGGA  | f        |
| P200                  | 5'CTCAGCCTCAACGTACCCCTGTCTCAAATGCG | r        |
| P13                   | 5'ACCGGGCACCTGTACTCCTCA            | f (2D7)  |
| P24                   | 5'GCATGAGCTAAGGCACCCAGAC           | r        |
| P81                   | 5'CGTCTAGTGGGGAGAACAAAC            | f        |
| CYP17                 | 5'TCCCCCACTGACCCAACTCT             | f (2D7)  |
| CYP32                 | 5'CACGTGCAGGCACCTAGAT              | r (2D7)  |
| P51                   | 5'GCTGGGGCCTGAGACTT                | f        |
| D2                    | 5'GGCTGGGTCCCACGTCATAC             | r        |
| P*3                   | 5'CCTGGGCAAGAAGTCGCTGGACCAG        | f        |
| P2                    | 5'GAGACTCCTCGGTCTCTCG              | r        |
| P81                   | 5'CGTCTAGTGGGGAGAACAAAC            | f        |
| P92                   | 5'CTCAGCCTCAACGTACCCCT             | r        |
| P61                   | 5'CCCGTTCTGTCCCGAGTATG             | f        |
| P*6                   | 5'GGGCTCACGCTGCACATCAGGA           | r        |
| P*5                   | 5'AGGCCTTCCTGGCAGAGATGAAG          | f        |
| P62                   | 5'CCCCTGCACTGTTTCCAG               | r        |
| P113                  | 5'TCAACACAGCAGGTTCA                | f        |
| P121                  | 5'CTGTGGTTTCACCCACC                | r        |
| P221                  | 5'TGCTCACTCCTGGTAGCC               | f        |
| P2222                 | 5'GGTCCCACGGAAATCTGTC              | r        |
| P2pf1                 | 5'GAATTCAAGAGCCTGGACAACCTTGGAAACC  | f        |
| P2pr302               | 5'CCCCTCCATTGTGCAATGATG            | r        |
| Pupf14+               | 5'GCCTGGACAACCTTGGAAGAACC          | f        |
| 1669                  | 5'AGGAAGATGGCCACTATCAC             | r        |
| <b>Primer CYP2C9</b>  |                                    |          |
| 2CL1                  | 5'CACTGGCTGAAAGAGCTAACAGAG         | f        |
| 2CR1                  | 5'GTGATATGGAGTAGGGTCACCCAC         | r        |
| C5                    | 5'AGGAAGAGATTGAACGTGTGA            | f        |
| 6A                    | 5'TGCATGGGGCAGGCTGGTGGGGAGAAGGTCAA | r        |
| <b>Primer CYP2C19</b> |                                    |          |
| mep f                 | 5'AATTACAACCAGAGCTTGGC             |          |
| mep r                 | 5'TATCACTTTCCATAAAAGCAAG           |          |

fett markierte Nukleotide entsprechen *mismatch*-Basen zur Generierung einer künstlichen Restriktionsstelle (ACRS), f = *forward* Primer, r = *reverse* Primer

### 2.3.7 Übersicht über alle PCR-Reaktionen

Tabelle 16: Design der PCR-RFLP-Tests für die CYP2D6-Mutationen

| PCR Nr.        | Detektierte Mutation        | PCR-Primer        | Fragment-Länge(bp) | Restriktions-enzym | Wildtyp Allel(bp)      | Mutiertes Allel(bp) |
|----------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------------------------|---------------------|
| 1              | Gesamtes CYP2D6             | LA 100<br>LA 200  | 4681               |                    | 4681                   |                     |
| 2 <sub>a</sub> | *5(Deletion)                | P13/P24/P81       | 4500               |                    | 4500                   | 3500                |
| 3 <sub>b</sub> | *MxN(Duplikation)           | CYP17/CYP32       | 5200               |                    | 5200                   | 3600                |
| 4              | *3( <i>Del A2637</i> )      | P51/D2            | 201                | Bsa A1             | 201                    | 180/20              |
| 5              | *4( <i>G&gt;1934A</i> )     | P*3/P2            | 353                | BstNI              | 190/63                 | 353                 |
|                | *6( <i>Del T1795</i> )      |                   |                    | BstNI              | 190/63                 | 190/139/23          |
|                | *8( <i>G&gt;1846T</i> )     |                   |                    | Msp I              | 278/75                 | 353                 |
| 6              | *2( <i>G&gt;4268C</i> )     | P81/P92           | 881                | Ban II             | 420/235/107/<br>101/18 | 420/336/107/<br>18  |
| 7              | *9( <i>Del A2701-2703</i> ) | P*5/62            | 386                | Mbo II + Hin 6 I   | 230/124/32             | 262/124             |
|                | <i>C&gt;2938T</i>           | P*5/62            | 383                | Mbo II + Hin 6 I   | 230/124/32             | 354/32              |
| 8              | *10( <i>C&gt;188T</i> )     | P113/P121         | 418                | Hph I              | 362/71                 | 262/100/71          |
| 9              | *17( <i>C&gt;1111T</i> )    | P221/P2222        | 319                | Fok I              | 319                    | 231/88              |
| 10             | *41 (Long-PCR)              | Pupf 14/1669      | 1656               |                    | 1656                   |                     |
| 11             | *41 ( <i>G&gt;-1496C</i> )  | PII pfl/PII pr302 | 322                | Bsp LI             |                        | 212/110             |

Die PCRs Nr. 4-9 sind *Nested*-Amplifikationen aus der PCR Nr.1; PCR Nr. 11 ist eine *Nested*-Amplifikation aus PCR Nr. 10, die PCRs NR. 1-3 sind Amplifikationen aus genomischer DNA; Methoden nach Sachse et al., 1997, <sub>a</sub> Steen et al., 1995a, <sub>b</sub> Lovlie et al., 1996

Tabelle 17: Design der PCR-RFLP-Tests für die CYP2C9-Mutationen

| PCR Nr. | Detektierte Mutation        | PCR-Primer | Fragment-Länge(bp) | Restriktions-enzym | Wildtyp Allel(bp) | Mutiertes Allel(bp) |
|---------|-----------------------------|------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 12      | *2( <i>Arg&gt;144/Cys</i> ) | 2CL1/2CR1  | 372                | Sau 96             | 179/119/74        | 253/119             |
| 13      | *3( <i>Ile&gt;359/Leu</i> ) | C5/6A      | 137                | Sty I              | 137               | 104/133             |

Methode nach Sullivan-Klose et al., 1996, Aynacioglu et al., 1999

Tabelle 18: Design des PCR-RFLP-Tests für die CYP2C19\*2-Mutation

| PCR Nr. | Detektierte Mutation    | PCR-Primer  | Fragment-Länge(bp) | Restriktions-enzym | Wildtyp Allel(bp) | Mutiertes Allel(bp) |
|---------|-------------------------|-------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 14      | *2( <i>G&gt;681/A</i> ) | mep f/mep r | 190                | Sma I              | 120/49            | 169                 |

Methode nach De Morais et al., 1994

### 2.3.7.1 Reaktionsbedingungen im Einzelnen

Die Reaktionsansätze und die entsprechenden Cyclerprogramme zur Bestimmung der in dieser Arbeit untersuchten Mutationen des CYP2D6-, CYP2C9- und CYP2C19-Gens sind im Folgenden dargestellt. Die Mengenangaben für die PCR-Reaktion (25µl) sind für je eine Probe berechnet und mit der Anzahl der Proben multipliziert worden. Zur Herstellung des Reaktionsansatzes wurden die bei –20°C gelagerten Lösungen mit einem halbautomatischen Schüttler aufgetaut, anschließend auf Eis gestellt und entsprechend dem vorgegebenen Ansatz pipettiert. Nach zweimaligem Mischen und Zentrifugieren wurde der Reaktionsansatz auf die einzelnen PCR-Gefäße verteilt. Die Zugabe von 1µl genomischer DNA (Reaktionen 1-3, 10 und 12-14) beziehungsweise 1µl des verdünnten *Long*-Amplifikationsprodukts (Reaktionen 4-9 und 11) erfolgte kurz vor dem *Cyclerstart* in einem extra dafür vorgesehen Raum zwecks Kontaminationsverminderung. Nach nochmaligem Mischen und Zentrifugieren des nun vollständigen Reaktionsansatzes wurden die PCR-Gefäße bei ca. 85-90°C in den *Cycler* gestellt. Dieser sogenannte *Hot-Start* bewirkte den sofortigen Beginn der DNA-Hitzedenaturierung zur Vermeidung einer Kontamination durch unspezifische Amplifizierung durch die DNA-Polymerasen. Die Bestimmung der Genotypen für die Deletion (\*5) und die Duplikation (MxN) konnte bereits nach diesem Schritt mittels Auftrennung in die spezifischen Fragmente erfolgen. Zur Genotypisierung der übrigen Allele wurden die PCR-Produkte mit den entsprechenden Restriktionsendonukleasen verdaut und die gewonnenen Restriktionsergebnisse anschließend auf einem 3%igen Agarosegel dargestellt und mit einem digitalen Videosystems dokumentiert.

Tabelle 19: PCR Nr.1: Amplifikation des gesamten CYP2D6-Gens

|                    |                                    |        |
|--------------------|------------------------------------|--------|
| Reaktionsansatz 1: | Primer P100                        | 0,75µl |
|                    | Primer P200                        | 0,75µl |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 6,25µl |
|                    | Biotherm                           | 0,35µl |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 6,9µl  |
| Reaktionsansatz 2: | 10xPuffer 2 (Expand-Kit)           | 2,7µl  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 5,8µl  |
|                    | PWO ( 0,1U/µl)                     | 1,5µl  |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |        |
|                    | 35 x (96°C 10s/Ramp:40s, 57°C      |        |
|                    | 20s/Ramp:40s, 68°C 5min)           |        |
|                    | 7 min 68°C – 4°C                   |        |
| Elektrophorese:    | 30 Minuten bei 120V auf 1%igem     |        |
|                    | Agarosegel                         |        |
| DNA-Marker:        | 1kb (MBI Fermentas)                |        |
| <b>Auswertung:</b> | 4681bp Fragment                    |        |

Das verbleibende PCR-Produkt wurde 1:5 mit destilliertem H<sub>2</sub>O verdünnt und war Ausgangsmaterial für die *Nested*-PCRs.

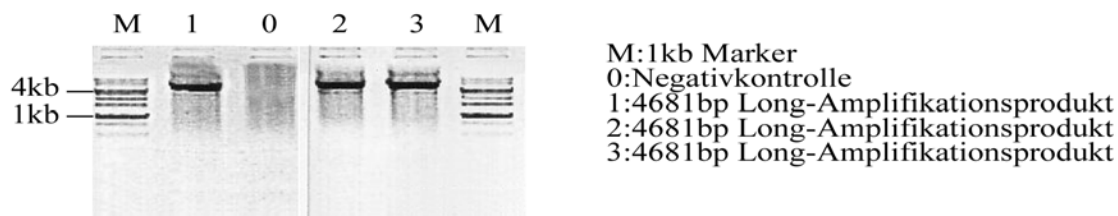


Abbildung 5: CYP2D6-Amplifikation

Tabelle 20: PCR Nr.2: Nachweis der CYP2D6-Deletion (Allel\*5)

|                    |                                    |              |              |
|--------------------|------------------------------------|--------------|--------------|
| Reaktionsansatz:   | 10xPuffer 2 (Expand-Kit)           | 2,5µl        |              |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 4,5µl        |              |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 16,2µl       |              |
|                    | Primer P13 (10µM)                  | 0,5µl        |              |
|                    | Primer P24 (10µM)                  | 0,5µl        |              |
|                    | Primer P81(10µM)                   | 0,5µl        |              |
|                    | Polymerase (Expand-Kit)            | 0,3µl        |              |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |              |              |
|                    | 35 x (10s 96°C, 20s                |              |              |
|                    | 57°C, 5min 58°C)                   |              |              |
|                    | 7min 68°C – 4°C                    |              |              |
| Elektrophorese:    | 90 Minuten bei 120V auf            |              |              |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |              |              |
| DNA-Marker:        | 1kb (MBI Fermentas)                |              |              |
| <b>Auswertung:</b> |                                    |              |              |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u>                       | <u>*1/*5</u> | <u>*5/*5</u> |
| Codierung:         | 0                                  | 1            | 2            |
| Muster (bp)        | 4500                               | 4500<br>3500 | 3500         |

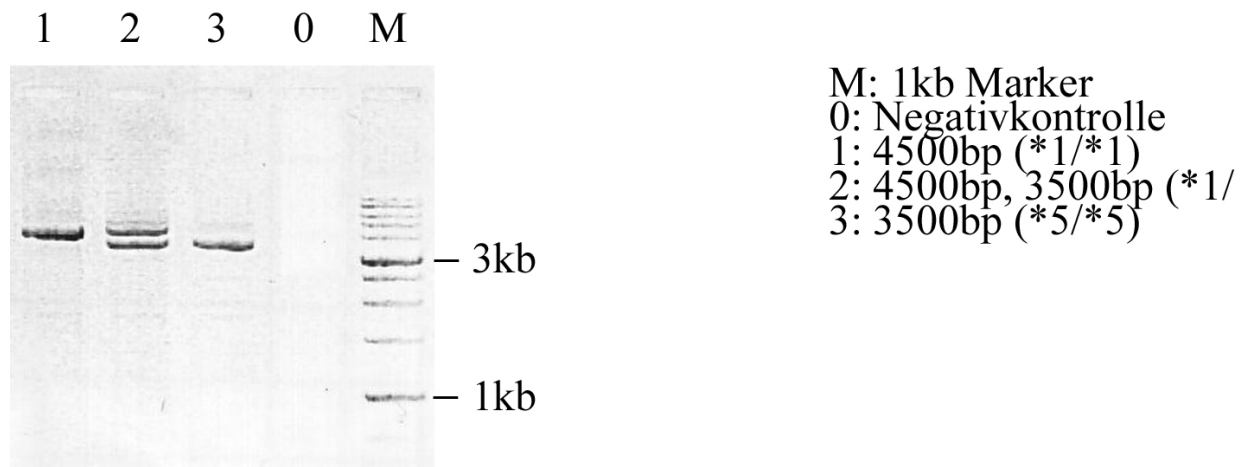


Abbildung 6: CYP2D6-Deletion

Tabelle 21: PCR Nr.3: Nachweis der CYP2D6-Duplikation (MxN)

|                    |                                    |                |                  |  |
|--------------------|------------------------------------|----------------|------------------|--|
| Reaktionsansatz:   | 10xPuffer 2 (Expand-Kit)           | 2,5µl          |                  |  |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 4,5µl          |                  |  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 16,7µl         |                  |  |
|                    | Primer CYP 17(10µM)                | 0,5µl          |                  |  |
|                    | Primer CYP 32(10µM)                | 0,5µl          |                  |  |
|                    | Polymerase (Expand-Kit)            | 0,3µl          |                  |  |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |                |                  |  |
|                    | 35 x (10s 96°C, 20s                |                |                  |  |
|                    | 57°C, 5min 68°C)                   |                |                  |  |
|                    | 7min 68°C – 4°C                    |                |                  |  |
| Elektrophorese:    | 90 Minuten bei 120V auf            |                |                  |  |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |                |                  |  |
| DNA-Marker:        | 1kb (MBI Fermentas)                |                |                  |  |
| <b>Auswertung:</b> |                                    |                |                  |  |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u>                       | <u>*1/*MxN</u> | <u>*MxN/*MxN</u> |  |
| Codierung:         | 0                                  | 1              | 2                |  |
| Muster (bp)        | 5200                               | 5200           | 3600             |  |
|                    |                                    | 3600           |                  |  |
|                    |                                    |                | 3600             |  |

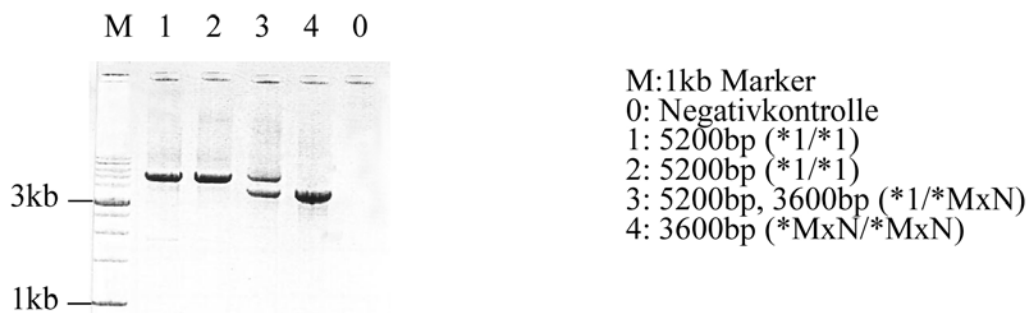


Abbildung 7: CYP2D6-Duplikation



Tabelle 22: PCR-Nr.4: Nachweis der CYP2D6-Mutation Del A2637 (\*3)

|                    |                                    |              |              |  |
|--------------------|------------------------------------|--------------|--------------|--|
| Reaktionsansatz:   | 10xPerkin Elmer Puffer             | 2,5µl        |              |  |
|                    | MgCl <sub>2</sub> (25mM)           | 1,25µl       |              |  |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 2,5µl        |              |  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 17,5µl       |              |  |
|                    | Primer P51 (10µM)                  | 0,5µl        |              |  |
|                    | Primer D2 (10µM)                   | 0,5µl        |              |  |
|                    | AmpliTaQ Polymerase                | 0,25µl       |              |  |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |              |              |  |
|                    | 25 x (30s 95°C, 10s 60°C,          |              |              |  |
|                    | 1min 72°C)                         |              |              |  |
|                    | 7min 72°C – 4°C                    |              |              |  |
| Elektrophorese:    | 30 Minuten bei 120V auf            |              |              |  |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |              |              |  |
| DNA-Marker:        | 100bp (MBI Fermentas)              |              |              |  |
| <b>Auswertung:</b> | 201bp Fragment                     |              |              |  |
| <b>RFLP-Test:</b>  |                                    |              |              |  |
| Enzym:             | Bsa AI                             |              |              |  |
| Enzymansatz:       | PCR-Produkt                        | 20µl         |              |  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril,bidest.)  | 6µl          |              |  |
|                    | Puffer NEB                         | 3µl          |              |  |
|                    | Bsa AI                             | 1µl          |              |  |
| Elektrophorese:    | 60 Minuten bei 80V auf             |              |              |  |
|                    | 3%igem Agarosegel                  |              |              |  |
| <b>Auswertung:</b> |                                    |              |              |  |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u>                       | <u>*1/*3</u> | <u>*3/*3</u> |  |
| Codierung:         | 0                                  | 1            | 2            |  |
| Muster (bp):       | 201                                | 201          | 180          |  |
|                    |                                    | 180          | 20           |  |
|                    |                                    | 20           | 20           |  |

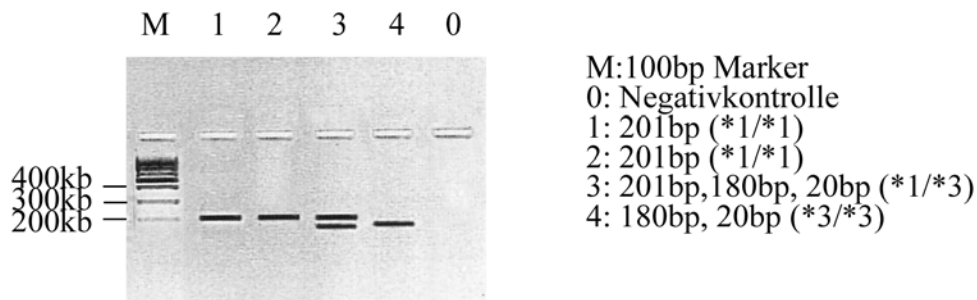


Abbildung 8: CYP2D6\*3

Die Reaktionsansätze, die Auswahl des *Cycler*-Programmes sowie die Angaben zur Elektrophorese der PCRs Nr.5-9 entsprachen denen des Nachweises der CYP2D6-Allel\*3-Mutation. Die einzelnen Auswertungen sind im Folgenden dargestellt. Die verwendeten Enzyme sind der Tabelle mit der Übersicht über alle PCR-Reaktionen zu entnehmen.

Tabelle 23: PCR Nr.5: Nachweis der CYP2D6-Mutationen G>1934A (\*4), DeIT1795 (\*6) und G>1846T (\*8)

| Auswertung: CYP2D6 *4 und*6 |              |              |              |              |              | CYP2D6*8     |              |              |              |
|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Genotyp:                    | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*4</u> | <u>*4/*4</u> | <u>*1/*6</u> | <u>*4/*6</u> | <u>*6/*6</u> | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*8</u> | <u>*8/*8</u> |
| Codierung:                  | 0            | 1            | 2            | 0            | 1            | 0            | 0            | 1            | 2            |
|                             | 0            | 0            | 0            | 1            | 1            | 2            |              |              |              |
| Muster (bp):                |              | 353          | 353          |              | 353          |              |              | 353          | 353          |
|                             | 190          | 190          |              | 190          | 190          | 190          | 278          | 278          |              |
|                             | 163          | 163          |              | 163          |              |              | 75           | 75           |              |
|                             |              |              |              | 139          | 139          | 139          |              |              |              |
|                             |              |              |              | 23           | 23           | 23           |              |              |              |

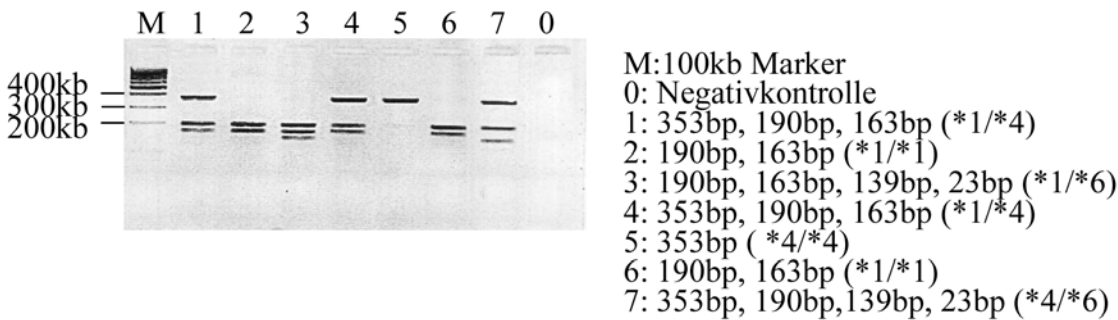


Abbildung 9: CYP2D6 \*4/\*6

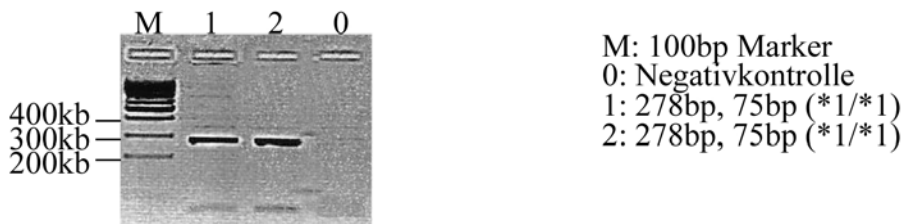


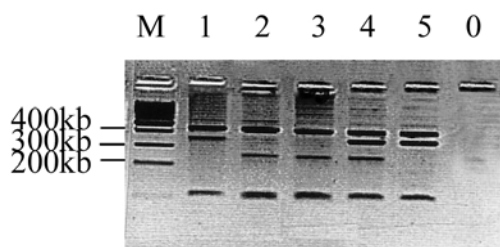
Abbildung 10: CYP2D6 \*8

Die Mutation  $G>4268C$  findet sich auch bei den Allelen \*4, \*8, \*9, \*10 und \*17. Die Bezeichnung Allel\*2 ist nur dann gegeben, wenn keine weitere Mutation vorliegt.

Tabelle 24: PCR Nr.6: Nachweis der CYP2D6-Mutation  $G>4268C$  (\*2)

**Auswertung:**

| Genotyp:    | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*2</u> | <u>*2/*2</u> |
|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Codierung:  | 0            | 1            | 2            |
| Muster(bp): | 420          | 420          | 420          |
|             | 235          | 363          | 363          |
|             | 107          | 235          | 235          |
|             | 101          | 107          | 107          |
|             | 18           | 101          | 18           |
|             |              | 18           |              |



M: 100bp Marker

0: Negativkontrolle

1: 420bp, 336bp, 107bp (\*2/\*2)

2: 420bp, 235bp, 107bp (\*1/\*1)

3: 420bp, 235bp, 107bp (\*1/\*1)

4: 420bp, 336bp, 235bp, 107bp (\*1/\*2)

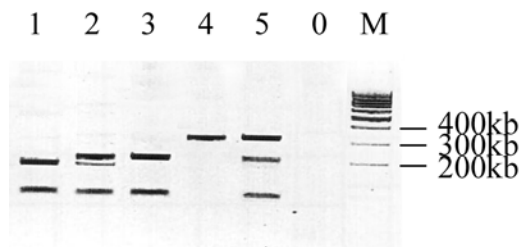
5: 420bp, 336bp, 107bp (\*2/\*2)

Abbildung 11: CYP2D6\*2

Tabelle 25: PCR Nr.7: Nachweis der CYP2D6-Mutation Del A2701-2703 (\*9) und der Position  $C>2938T$

**Auswertung:**

| Genotyp:    | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*9</u> | <u>*9/*9</u> | <u>*1/2938</u> | <u>2938/2938</u> | <u>*9/2938</u> |
|-------------|--------------|--------------|--------------|----------------|------------------|----------------|
| Codierung:  | 0            | 1            | 2            | 0              | 0                | 1              |
| Muster(bp): | 0            | 0            | 0            | 354            | 354              | 354            |
|             |              | 262          | 262          |                |                  | 262            |
|             | 230          | 230          |              | 230            |                  |                |
|             | 124          | 124          | 124          | 124            |                  | 124            |
|             | 32           | 32           |              | 32             | 32               | 32             |



M: 100bp Marker

0: Negativkontrolle

1: 230bp, 124bp, 32bp (\*1/\*1)

2: 262bp, 230bp, 124bp, 32bp (\*1/\*9)

3: 262bp, 124bp, 32bp (\*9/\*9)

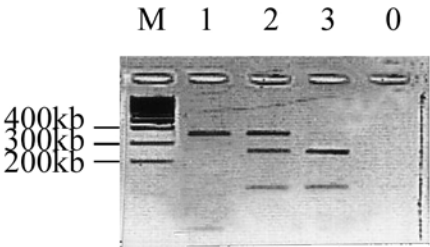
4: 354bp, 32bp (2938/2938)

5: 354bp, 230bp, 124bp (\*1/\*2938)

Abbildung 12: CYP2D6 \*9 und Position 2938

Tabelle 26: PCR Nr. 8: Nachweis der CYP2D6-Mutation C>188T (\*10)

|                    |              |               |                |
|--------------------|--------------|---------------|----------------|
| <b>Auswertung:</b> |              |               |                |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*10</u> | <u>*10/*10</u> |
| Codierung:         | 0            | 1             | 2              |
| Muster(bp):        | 362          | 362           | 262            |
|                    |              | 262           | 262            |
|                    |              | 100           | 100            |
|                    | 71           | 71            | 71             |

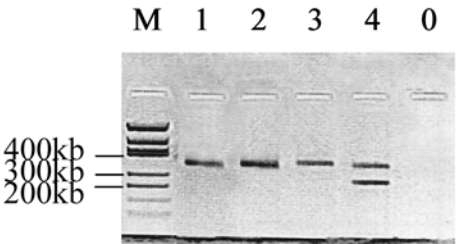


M: 100bp Marker  
0: Negativkontrolle  
1: 362bp, 71bp (\*1/\*1)  
2: 362bp, 262bp, 100bp, 71bp (\*1/\*10)  
3: 262bp, 100bp, 71bp (\*10/\*10)

Abbildung 13: CYP2D6\*10

Tabelle 27: PCR Nr.9: Nachweis der CYP2D6-Mutation C>1111T (\*17)

|                    |              |               |                |
|--------------------|--------------|---------------|----------------|
| <b>Auswertung:</b> |              |               |                |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*17</u> | <u>*17/*17</u> |
| Codierung:         | 0            | 1             | 2              |
| Muster(bp):        | 319          | 319           | 231            |
|                    |              | 231           | 88             |
|                    |              | 88            | 88             |



M:100bp Marker  
0: Negativkontrolle  
1: 319bp (\*1/\*1)  
2: 319bp (\*1/\*1)  
3: 319bp (\*1/\*1)  
4: 319bp, 231bp, 88bp (\*1/\*17)

Abbildung 14: CYP2D6\*17

Tabelle 28: PCR Nr. 10: Long-PCR des CYP2D6-Allels \*41

|                  |   |        |
|------------------|---|--------|
| Reaktionsansatz: | 10xPuffer 1 (Expand-Kit)                  | 2,7µl  |
|                  | dNTPs (2mM)                               | 6,25µl |
|                  | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)        | 12,7µl |
|                  | Primer Pupf 14+ (10µM)                    | 0,75µl |
|                  | Primer 1669 (10µM)                        | 0,75µl |
|                  | Polymerase (Biotherm)                     | 0,35µl |
|                  | Pwo (0,1U/µl; Sawady)                     | 1,5µl  |
| Cycler-Programm: | 2min 94°C                                 |        |
|                  | 10 x (10s 96°C, 20s 72°C, 6min 68°C)      |        |
|                  | 25x (10s 96°C, 20s 62°C, 6min 68°C)       |        |
|                  | 7min 68°C – 4°C                           |        |
| Elektrophorese:  | 30 Minuten bei 120V auf 1%igem Agarosegel |        |
| DNA-Marker:      | 1kb (MBI Fermentas)                       |        |
| Auswertung:      | 1656bp Fragment                           |        |

Das PCR-Produkt wurde 1:5 verdünnt und in der PCR Nr.11 eingesetzt.

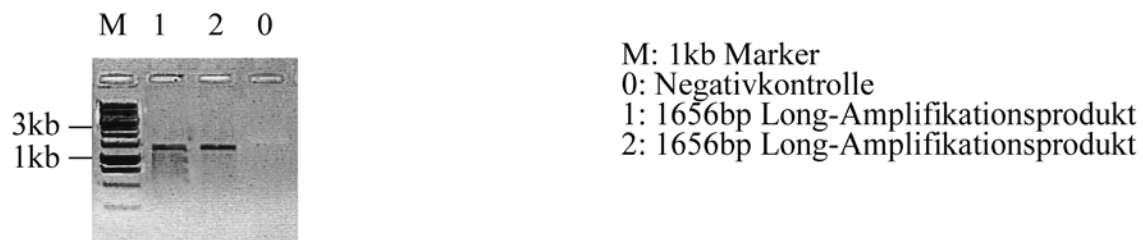


Abbildung 15: CYP2D6 Long-Amplifikationsprodukt des CYP2D6\*41-Allels

Die mutierte Variante in der \*2-Promotorregion (*C>-1496G*) wurde als \*2A-Allel in die CYP2D6-Nomenklatur eingeführt (Gaedigk et al., 2003); laut aktueller Studienlage kommt sie wahrscheinlich bei allen CYP2D6\*2-Allelen vor (Johansson et al., 1993 und Raimundo et al., 2000, Gaedigk et al., 2003). Die *-1496C*-Variante ist spezifisch für das \*41-Allel in der Promotorregion. Die Nukleotidposition *-1496C* nach Kimura et al., 1989 entspricht der Position *-1584C* der Nomenklatur nach <http://www.imm.ki.se/CYPallels/cyp2D6.htm>.

Tabelle 29: PCR Nr.11: Nachweis der CYP2D6-Variante -1496C (\*41)

|                    |                                    |               |                |  |
|--------------------|------------------------------------|---------------|----------------|--|
| Reaktionsansatz:   | 10x Gene Craft Puffer              | 2,0 µl        |                |  |
|                    | MgCl <sub>2</sub> (25mM)           | 0,8µl         |                |  |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 2,0 µl        |                |  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 14µl          |                |  |
|                    | Primer PII pr 302(10µM)            | 0,5µl         |                |  |
|                    | Primer PII pf 1 (10µM)             | 0,5µl         |                |  |
|                    | Polymerase(Biotherm)               | 0,2µl         |                |  |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |               |                |  |
|                    | 12 x (10s 94°C, 20s 60°C,          |               |                |  |
|                    | 1min 72°C)                         |               |                |  |
|                    | 7min 72°C – 4°C                    |               |                |  |
| Elektrophorese:    | 30 Minuten bei 120V auf            |               |                |  |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |               |                |  |
| DNA-Marker:        | 100bp (MBI Fermentas)              |               |                |  |
| <b>Auswertung:</b> | 201bp Fragment                     |               |                |  |
| <b>RFLP-Test:</b>  |                                    |               |                |  |
| Enzym:             | Bsp LI                             |               |                |  |
| Enzymansatz:       | PCR-Produkt                        | 20µl          |                |  |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril,bidest.)  | 6,5µl         |                |  |
|                    | Puffer für BSP LI                  | 3µl           |                |  |
|                    | Bsp LI                             | 0,5µl         |                |  |
| DNA-Marker         | 100bp (MBI-Fermentas)              |               |                |  |
| Elektrophorese:    | 45Minuten bei 120V auf             |               |                |  |
|                    | 4%igem Agarosegel                  |               |                |  |
| <b>Auswertung:</b> |                                    |               |                |  |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u>                       | <u>*1/*41</u> | <u>*41/*41</u> |  |
| Codierung:         | 0                                  | 1             | 2              |  |
| Muster (bp):       | 212                                | 212           | 212            |  |
|                    |                                    | 110           | 110            |  |
|                    | 77                                 | 77            |                |  |
|                    | 33                                 | 33            |                |  |

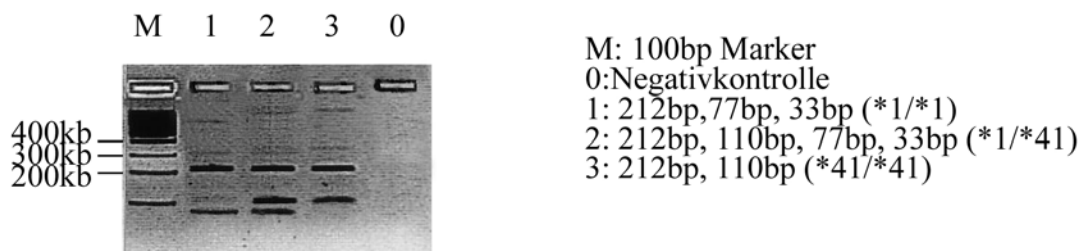


Abbildung 16: CYP2D6 \*41

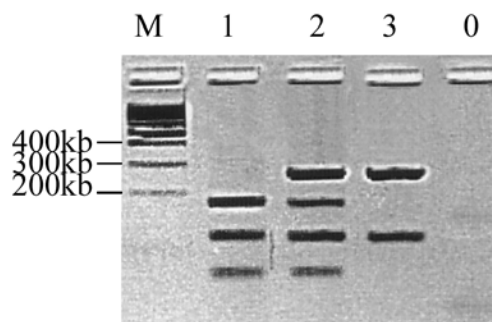
Für die Bestimmung der CYP2C9- und C19-Allele wurden dem Reaktionsansatz 1µl genomischer DNA zugegeben.

Tabelle 30: PCR Nr. 12 und 13: Nachweis der CYP2C9-Mutationen Arg&gt;144/Cyst (\*2) und Ile&gt;359/Leu (\*3)

|                    |                                    |         |
|--------------------|------------------------------------|---------|
| Reaktionsansatz:   | 10xPerkin Elmer Puffer             | 2,5µl   |
|                    | MgCl <sub>2</sub> (25mM)           | 1,5µl   |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 2,5µl   |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 17,35µl |
|                    | *2 Primer: 2CL1(10µM)              | 0,5µl   |
|                    | *2 Primer: 2CR1(10µM)              | 0,5µl   |
|                    | *3 Primer: C5 (10µM)               | 0,5µl   |
|                    | *3 Primer: 6A (10µM)               | 0,5µl   |
|                    | AmpliTaQ Polymerase                | 0,15µl  |
| Cycler-Programm:   | 2min 94°C                          |         |
|                    | 35 x (30s 94°C, 10s 60°C,          |         |
|                    | 1min 72°C)                         |         |
|                    | 7min 72°C – 4°C                    |         |
| Elektrophorese:    | 30 Minuten bei 120 V auf           |         |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |         |
| DNA-Marker:        | 100bp (MBI Fermentas)              |         |
| <b>Auswertung:</b> | 137bp Fragment                     |         |
| <b>RFLP-Test:</b>  |                                    |         |
| Enzym:             | *2 Enzym: Sau 96                   |         |
|                    | *3 Enzym: Sty I                    |         |
| Enzymansatz:       | PCR-Produkt                        | 10µl    |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 6,5µl   |
|                    | *2 Puffer: NEB 4                   | 2µl     |
|                    | *3 Puffer: NEB 3                   | 2µl     |
|                    | Enzym                              | 1µl     |
| Elektrophorese:    | 60 Minuten bei 100V auf            |         |
|                    | 3%igem Agarosegel                  |         |

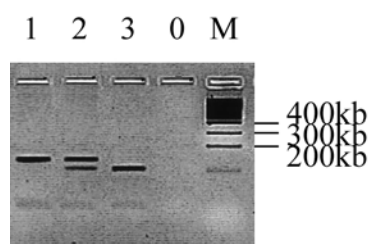
Tabelle 31: Auswertung der CYP2C9-Allelbestimmung

|                    |              |              |              |              |              |              |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Auswertung:</b> | Allel*2      |              |              | Allel*3      |              |              |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*2</u> | <u>*2/*2</u> | <u>*1/*1</u> | <u>*1/*3</u> | <u>*3/*3</u> |
| Codierung:         | 0            | 1            | 2            | 0            | 1            | 2            |
| Muster (bp):       |              | 253          | 253          | 137          | 137          |              |
|                    | 179          | 179          |              |              | 104          | 104          |
|                    | 119          | 119          | 119          |              | 33           | 33           |
|                    | 74           | 74           |              |              |              |              |



M: 100bp Marker  
 0: Negativkontrolle  
 1: 179bp, 119bp, 74bp (\*1/\*1)  
 2: 253bp, 179bp, 119bp, 74bp (\*1/\*2)  
 3: 253bp, 119bp (\*2/\*2)

Abbildung 17: CYP2C9\*2

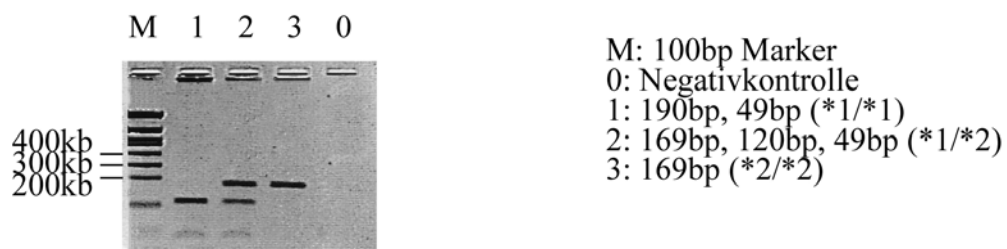


M: 100bp Marker  
 0: Negativkontrolle  
 1: 137bp (\*1/\*1)  
 2: 137bp, 104bp, 33bp (\*1/\*3)  
 3: 104bp, 33bp (\*3/\*3)

**Abbildung 18: CYP2C9\*3**

Tabelle 32: PCR Nr. 14: Nachweis der CYP2C19-Mutation G&gt;681/A (\*2)

|                    |                                    |              |              |
|--------------------|------------------------------------|--------------|--------------|
| Reaktionsansatz:   | 10xPerkin Elmer Puffer             | 2,5µl        |              |
|                    | MgCl <sub>2</sub> (25mM)           | 1,25µl       |              |
|                    | dNTPs (2mM)                        | 0,75µl       |              |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 19,1µl       |              |
|                    | Primer mep f (10µM)                | 0,625µl      |              |
|                    | Primer mep r (10µM)                | 0,625µl      |              |
|                    | AmpliTaQ Polymerase                | 0,15µl       |              |
| Cycler-Programm    | 2min 94°C                          |              |              |
|                    | 38 x (30s 94°C, 30s                |              |              |
|                    | 58°C, 1min 72°C)                   |              |              |
|                    | 7min 72°C – 4°C                    |              |              |
| Elektrophorese:    | 30 Minuten bei 120V auf            |              |              |
|                    | 1%igem Agarosegel                  |              |              |
| DNA-Marker:        | 100bp (MBI Fermentas)              |              |              |
| <b>Auswertung:</b> | 190bp Fragment                     |              |              |
| <b>RFLP-Test:</b>  |                                    |              |              |
| Enzym:             | Sma I                              |              |              |
| Enzymansatz:       | PCR-Produkt                        | 20µl         |              |
|                    | H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) | 6µl          |              |
|                    | Puffer NEB 4                       | 3µl          |              |
|                    | Sma I                              | 1µl          |              |
| Elektrophorese:    | 60 Minuten bei 100V auf            |              |              |
|                    | 3%igem Agarosegel                  |              |              |
| <b>Auswertung:</b> |                                    |              |              |
| Genotyp:           | <u>*1/*1</u>                       | <u>*1/*2</u> | <u>*2/*2</u> |
| Codierung:         | 0                                  | 1            | 2            |
| Muster (bp):       |                                    | 169          | 169          |
|                    | 120                                | 120          |              |
|                    | 49                                 | 49           |              |

**Abbildung 19: CYP2C19\*2**



## 2.3.8 Agarosegel-Elektrophorese

### 2.3.8.1 Chemikalien, Reagentien und Lösungen für die Agarosegel-Elektrophorese

Tabelle 33: Reagenzien und Lösungen für die Agarosegel-Elektrophorese

| Reagentien und Lösungen                             |  |
|---|--|
| 10 x Tris-Borat-EDTA-Puffer ( 10 x TBE, Konzentrat) | 109g Tris (900mM)<br>+55g Borsäure (890mM)<br>+0,5 M EDTA-Lösung pH 8,0 (20mM)<br>+H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) ad 1 l   |
| 1 x TBE   | 10 x TBE 1:10 mit H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) verdünnt  |
| Ethidiumbromid-Stammlösung                          | 100mg Ethidiumbromid in 100ml H <sub>2</sub> O gelöst  |
| Ethidiumbromid-Gebrauchslösung                      | 10µl Stammlösung / 100ml 1 x TBE   |
| Probenlaufpuffer                                    | 0,25g Bromphenolblau<br>+15g Ficoll-400 (Pharmacia)<br>+H <sub>2</sub> O (steril,bidest.) ad 100ml, mischen und bei 4°C lagern |
| Agarose ultrapure                                   |  |
| 100bp und 1kb DNA-Marker                            | MBI Fermentas  |
| Hpa II DNA-Marker                                   |  |

### 2.3.8.2 Elektrophorese

Die Proben wurden, wie in den einzelnen PCR-Reaktionen beschrieben, für die Elektrophorese vorbereitet. Für die PCR-Kontrolle wurden 5µl PCR-Produkt in einer Mikrotiterplatte zu 10µl Bromphenolblau pipettiert, gemischt und auf das 1%ige Gel aufgetragen. Für die PCR-RFLP-Analysen wurden 10µl des über Nacht mit Restriktionsenzym inkubierten PCR-Produktes ebenfalls mit 10µl Bromphenol-Blau gemischt und auf das 3%ige Gel aufgetragen. Um die Fragmentlänge der aufgetrennten PCR-Produkte bestimmen zu können, lief pro Probenreihe eine Tasche mit einem Marker, entsprechend der gesuchten Fragmentgröße, mit. Die Fragmente wanderten abhängig von ihrer Größe unterschiedlich schnell durch die netzähnlichen Polysaccharidstrukturen des Agarosegels und wurden schließlich durch intercalierende Farbstoffe wie Ethidiumbromid sichtbar gemacht. Abhängig von der Amplifikatgröße wurden die Elektrophoresen mit unterschiedlichen Spannungen und Laufzeiten auf einem 1%igem oder 3%igem Gel durchgeführt (siehe Beschreibung unter den einzelnen PCR-Reaktionen).

## 2.4 Software und statistische Berechnungen

Die umfangreichen Patientendaten wurden in einer *Access*®-Datenbank (Microsoft, USA) archiviert. Für die statistischen Untersuchungen wurde das Programm *SPSS*® 8.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*; Inc., USA) für Windows verwendet.

Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Allelvarianten für CYP2D6, CYP2C9 und CYP2C19 wurden mit nichtparametrischen Tests ermittelt, wie dem *T-Test* und dem *Levene-Test* der Varianzgleichheit. Zur Feststellung signifikanter Unterschiede hinsichtlich pharmakokinetischer Eigenschaften in Bezug auf die einzelnen Genotypen wurde der Trendtest nach *Jonckheere-Terpstra* verwendet. Die Reihenfolge zur statistischen Testung der Langzeitresponse unter medikamentöser antidepressiver Therapie wurde entsprechend der Anzahl aktiver Allele wie folgt festgelegt: CYP2D6: PM > IM > EM > UM

Die Analyse der Häufigkeitsverteilung der untersuchten CYP2D6-, 2C9- und 2C19-Allele und die Abhängigkeit zum Therapieerfolg und der Nebenwirkungsrate erfolgte mittels des *Chi<sup>2</sup>-Test* ( $\chi^2$ -Test).

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Häufigkeitsverteilung der CYP2D6-Polymorphismen

334 Patienten haben wir für die wichtigen defekten CYP2D6-Allele \*3, \*4, \*6, \*5 und die Duplikation untersucht, was nach Sachse et al., 1997 ausreicht, um Langsam-Metabolisierer (PMs) mit einer Wahrscheinlichkeit von 97% zu entdecken. Zusätzlich wurden 200 Patienten für die CYP2D6-Allele \*8, \*9, \*10, \*17, \*2 und \*41 untersucht.

##### 3.1.1 Häufigkeit der CYP2D6-Genotypen

Die Gruppe der CYP2D6-Langsam-Metabolisierer (PM-Gruppe) mit 0 aktiven CYP2D6-Allelen ergab folgende Verteilung: 10 von 200 (5%) genotypisierten Patienten besaßen kein aktives CYP2D6-Allel. Unter 334 untersuchten Patienten erhöhte sich die Frequenz auf 9%. Dies entspricht der Genotypverteilung in der gesunden kaukasischen Bevölkerung. Insgesamt wurde in der PM-Gruppe das \*4-Allel am häufigsten detektiert.

*Extensive-Metabolizer* mit 2 aktiven Allelen wurden in beiden Gruppen etwa gleich häufig detektiert (52% unter 200 Patienten, 54% unter 334 Patienten). Der \*1/\*2-Genotyp wurde mit einer Frequenz von 14,5% am häufigsten nachgewiesen, gefolgt vom \*1/\*1-Genotyp (10%) und vom \*1/\*41-Genotyp (7,5%).

Unter den *Intermediate-Metabolizern* (IMs) mit einem aktiven Allel stellte der \*1/\*4-Genotyp mit 16,5% den Hauptanteil, \*2/\*4 (9,5%) und \*41/\*4 (7%) folgten an zweiter und dritter Stelle. Der Anteil der IMs von 39% und 37% in den beiden Gruppen entsprach der Normalverteilung in der gesunden kaukasischen Population.

Bei den ultraschnellen Metabolisierern (UM-Genotyp) konnte eine homozygote Duplikation mit entsprechend vier aktiven Allelen (\*1x2/\*9x2) nur in einem Fall unter 200 genotypisierten Patienten nachgewiesen werden. Die übrigen neun Duplikationen waren heterozygote Kombinationen mit dem \*2-, \*1- oder dem \*41-Allel. Der höhere Prozentsatz des UM-Metabolisierungstyps von 5% im Vergleich zu 2,63% in der kaukasischen Bevölkerung in der Arbeit von Sachse et al., 1997, erreichte statistische Signifikanz laut *Chi-Quadrat-Test* ( $p=0,0362$ ). Die Duplikationsfrequenz von 3% unter 334 genotypisierten Patienten dagegen entspricht wieder der Normalverteilung. Eine Differenzierung der duplizierten Allele (\*2, \*4, \*41) wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen. In nicht eindeutigen Fällen gingen wir von der Duplikation des \*2-Allels aus, da dieses am häufigsten mit einer Vervielfältigung einhergeht.

Der Vergleich und die Signifikanztestung mittels *Chi-Quadrat-Test* erfolgte anhand der Daten von Sachse et al., 1997. Die detaillierten Ergebnisse sind in der Tabelle 34 dargestellt.

Tabelle 34: Häufigkeit der CYP2D6-Genotypen, die unter 200 und unter 334 depressiven Patienten detektiert wurden

| Genotyp<br>CYP2D6<br>(200<br>Patienten) | Genotyp<br>CYP2D6<br>(334<br>Patienten) | Anzahl<br>der<br>aktiven<br>Allele | Metaboli-<br>sierungs-<br>typ | n (200<br>Patienten) | %    | Chi-<br>Quadrat* | n (334<br>Patienten) | %    | Chi-<br>Quadrat* |
|---|---|------------------------------------|-------------------------------|----------------------|------|------------------|----------------------|------|------------------|
| *1x2/*9x2                               |   | 4                                  | UM                            | 1                    | 0,5  |                  |                      |      |                  |
| *1/*1x2                                 |   | 3                                  | UM                            | 2                    | 1    |                  |                      |      |                  |
| *1/*2x2                                 | *1/*2x2                                 | 3                                  | UM                            | 2                    | 1    |                  | 11                   | 3,3  |                  |
| *1/*41x2                                |   | 3                                  | UM                            | 2                    | 1    |                  |                      |      |                  |
| *41/*41x2                               |   | 3                                  | UM                            | 1                    | 0,5  |                  |                      |      |                  |
| *2/*41x2                                |   | 3                                  | UM                            | 1                    | 0,5  |                  |                      |      |                  |
| *2/*2x2                                 |   | 3                                  | UM                            | 1                    | 0,5  |                  |                      |      |                  |
|   |   | >2                                 | UM                            | 10                   | 5    | 0,0362           | 11                   | 3,3  | 0,4487           |
| *1/*1                                   | *1/*1                                   | 2                                  | EM                            | 20                   | 10   |                  | 174                  | 52,1 |                  |
| *1/*41                                  |   | 2                                  | EM                            | 15                   | 7,5  |                  |                      |      |                  |
| *1/*9                                   |   | 2                                  | EM                            | 3                    | 1,5  |                  |                      |      |                  |
| *41/*41                                 |   | 2                                  | EM                            | 3                    | 1,5  |                  |                      |      |                  |
| *41/*9                                  |   | 2                                  | EM                            | 3                    | 1,5  |                  |                      |      |                  |
| *1/*10                                  |   | 2                                  | EM                            | 5                    | 2,5  |                  |                      |      |                  |
| *41/*10                                 |   | 2                                  | EM                            | 2                    | 1    |                  |                      |      |                  |
| *1/*2                                   |   | 2                                  | EM                            | 29                   | 14,5 |                  |                      |      |                  |
| *41/*2                                  |   | 2                                  | EM                            | 6                    | 3    |                  |                      |      |                  |
| *2/*2                                   |   | 2                                  | EM                            | 12                   | 6    |                  |                      |      |                  |
| *2/*9                                   |   | 2                                  | EM                            | 2                    | 1    |                  |                      |      |                  |
| *4/*1x2                                 |   | 2                                  | EM                            | 2                    | 1    |                  |                      |      |                  |
| *4/*2x2                                 |   | 2                                  | EM                            | 1                    | 0,5  |                  |                      |      |                  |
|   | *4/*2x2                                 |                                    |                               |                      |      |                  | 5                    | 1,5  |                  |
|   |   | 2                                  | EM                            | 103                  | 51,5 | 0,4959           | 179                  | 53,6 | 0,9103           |

| Genotyp<br>CYP2D6<br>(200<br>Patienten) | Genotyp<br>CYP2D6<br>(334<br>Patienten) | Anzahl<br>der<br>aktiven<br>Allele | Metaboli-<br>sierungs-<br>typ | n (200<br>Patienten) | %           | Chi-<br>Quadrat* | n (334<br>Patienten) | %           | Chi-<br>Quadrat* |
|---|---|------------------------------------|-------------------------------|----------------------|-------------|------------------|----------------------|-------------|------------------|
| *1/*3                                   | *1/*3                                   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  | 10                   | 3,0         |                  |
| *1/*4                                   | *1/*4                                   | 1                                  | IM                            | 33                   | 16,5        |                  | 86                   | 26          |                  |
| *1/*5                                   | *1/*5                                   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  | 13                   | 3,9         |                  |
| *1/*6                                   | *1/*6                                   | 1                                  | IM                            | 3                    | 1,5         |                  | 6                    | 1,8         |                  |
| *41/*4                                  |   | 1                                  | IM                            | 14                   | 7           |                  |                      |             |                  |
| *41/*6                                  |   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  |                      |             |                  |
| *4/*9                                   |   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  |                      |             |                  |
| *4/*10                                  |   | 1                                  | IM                            | 2                    | 1           |                  |                      |             |                  |
| *2/*3                                   |   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  |                      |             |                  |
| *2/*4                                   |   | 1                                  | IM                            | 19                   | 9,5         |                  |                      |             |                  |
| *2/*5                                   |   | 1                                  | IM                            | 1                    | 0,5         |                  |                      |             |                  |
|   |   | <b>1</b>                           | <b>IM</b>                     | <b>77</b>            | <b>38,5</b> | <b>0,4985</b>    | <b>125</b>           | <b>37,4</b> | <b>0,6413</b>    |
|   | *3/*3                                   | 0                                  | PM                            |                      |             |                  | 1                    | 0,3         |                  |
|   | *3/*4                                   | 0                                  | PM                            |                      |             |                  | 4                    | 1,2         |                  |
| *3/*5                                   | *3/*5                                   | 0                                  | PM                            | 1                    | 0,5         |                  | 1                    | 0,3         |                  |
| *4/*4                                   | *4/*4                                   | 0                                  | PM                            | 7                    | 3,5         |                  | 15                   | 4,5         |                  |
|   | *4/*5                                   | 0                                  | PM                            |                      |             |                  | 2                    | 0,6         |                  |
| *4/*6                                   | *4/*6                                   | 0                                  | PM                            | 1                    | 0,5         |                  | 5                    | 1,5         |                  |
| *5/*5                                   | *5/*5                                   | 0                                  | PM                            | 1                    | 0,5         |                  | 1                    | 0,3         |                  |
|   |   | <b>0</b>                           | <b>PM</b>                     | <b>10</b>            | <b>5</b>    | <b>0,2215</b>    | <b>29</b>            | <b>8,7</b>  | <b>0,309</b>     |
| <b>Gesamt</b>                           |   |                                    |                               | <b>200</b>           | <b>100</b>  |                  | <b>334</b>           | <b>100</b>  |                  |

Gesamtzahl der gefundenen Genotypen n = 35; die **fett** markierten Genotypen sind mit der angewandten Duplikationsmethode nicht eindeutig bestimmbar; \* zur Berechnung des Chi-Quadrat-Tests wurde die in dieser Arbeit beobachtete Frequenz der CYP2D6-Genotypen mit der in der kaukasischen Normalbevölkerung verglichen. Die absoluten Werte zur Berechnung der erwarteten Häufigkeit sind den Daten von Sachse et al., 1997, entnommen.

Die Einführung einer Feinaktivität mit einem Score von 0,5 für die CYP2D6-Allele mit verminderter Aktivität (\*9, \*10, \*17 und \*41) berücksichtigt die verminderter Metabolisierungsaktivität der CYP2D6-Genotypen, die diese Allele besitzen. Dadurch soll eine präzisere Vorhersage der Metabolisierungskapazität der einzelnen Genotypen ermöglicht werden, die bisher in der klassischen Einteilung von PMs, IMs, EMs und UMs vor allem bei den schnellen und den intermediären Metabolisierern z.T. großen Überschneidungen unterlag. Die Feinaktivität der Genotypen wurde dabei wie folgt definiert:

0: Kombinationen der Allele \*4,\*5,\*6; 0,5: Allele mit verminderter Aktivität (\*9,\*10,\*41) in Kombination mit Null-Allelen; 1: Kombinationen aus einem aktiven Allel (\*1,\*2) und einem Null-Allel oder Kombinationen aus zwei Allelen mit verminderter Aktivität; 1,5: Kombination aus einem aktiven Allel und einem mit verminderter Aktivität oder in Kombination mit der Duplikation eines Allels mit verminderter Aktivität; 2: Genotyp mit zwei aktiven

Allelen oder mit Duplikation eines aktiven Alles in Kombination mit einem Null-Allel oder ein aktives Allel und die Duplikation eines Allels mit verminderter Aktivität; 3: Genotyp mit Duplikation eines aktiven Allels in Kombination mit einem aktiven Allel. Die sich daraus ergebene Verteilung der Genotypen ist in der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle 35: Häufigkeit der CYP2D6-Genotypen unter Berücksichtigung der CYP2D6-Feinaktivität unter 200 untersuchten depressiven Patienten

| Genotyp<br>CYP2D6 | n (200)   | CYP2D6-<br>Feinaktivität | %           | Genotyp<br>CYP2D6 | n (200)   | CYP2D6-<br>Feinaktivität | %           |
|-------------------|-----------|--------------------------|-------------|-------------------|-----------|--------------------------|-------------|
| *1/*1x2           | 2         | 3                        | 1           | *41/*41           | 3         | 1                        | 1,5         |
| *1/*2x2           | 2         | 3                        | 1           | *41/*9            | 3         | 1                        | 1,5         |
| *2/*2x2           | 1         | 3                        | 0,5         | *1/*3             | 1         | 1                        | 0,5         |
| *1x2/*9x2         | 1         | 3                        | 0,5         | *1/*4             | 33        | 1                        | 16,5        |
| <b>Gesamt:</b>    | <b>6</b>  |                          | <b>3</b>    | *1/*5             | 1         | 1                        | 0,5         |
| *1/*41x2          | 2         | 2                        | 1           | *1/*6             | 3         | 1                        | 1,5         |
| *2/*41x2          | 1         | 2                        | 0,5         | *2/*3             | 1         | 1                        | 0,5         |
| *1/*1             | 20        | 2                        | 10          | *2/*4             | 19        | 1                        | 9,5         |
| *1/*2             | 29        | 2                        | 14,5        | *2/*5             | 1         | 1                        | 0,5         |
| *2/*2             | 12        | 2                        | 6           | *41/*10           | 2         | 1                        | 1           |
| *4/*1x2           | 2         | 2                        | 1           | <b>Gesamt:</b>    | <b>67</b> |                          | <b>33,5</b> |
| *4/*2x2           | 1         | 2                        | 0,5         | *41/*4            | 14        | 0,5                      | 7           |
| <b>Gesamt:</b>    | <b>67</b> |                          | <b>33,5</b> | *41/*6            | 1         | 0,5                      | 0,5         |
| *41/*41x2         | 1         | 1,5                      | 0,5         | *4/*9             | 1         | 0,5                      | 0,5         |
| *1/*41            | 15        | 1,5                      | 7,5         | *4/*10            | 2         | 0,5                      | 1           |
| *1/*9             | 3         | 1,5                      | 1,5         | <b>Gesamt:</b>    | <b>18</b> |                          | <b>9</b>    |
| *1/*10            | 5         | 1,5                      | 2,5         | *3/*5             | 1         | 0                        | 0,5         |
| *41/*2            | 6         | 1,5                      | 3           | *4/*4             | 7         | 0                        | 3,5         |
| *2/*9             | 2         | 1,5                      | 1           | *4/*6             | 1         | 0                        | 0,5         |
| <b>Gesamt:</b>    | <b>32</b> |                          | <b>16</b>   | *5/*5             | 1         | 0                        | 0,5         |
|                   |           |                          |             | <b>Gesamt:</b>    | <b>10</b> |                          | <b>5</b>    |

Einführung der CYP2D6-Feinaktivität nach der Methode von Kirchheiner et al., 2004 und Steimer et al., 2004

### 3.1.2 Häufigkeitsverteilung der gefundenen SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) und anderer Genvarianten

Die Häufigkeiten der detektierten CYP2D6-Mutationen mit Bestimmung der defekten CYP2D6-Allelen (\*3, \*4, \*5, \*6), der Duplikation, der seltenen CYP2D6-Varianten (\*8, \*9, \*10, \*17) sowie des \*2-Allels und dessen Promotorvariante, das \*41-Allel, sind in Tabelle 36 dargestellt. Unter den Punktmutationen wurde die Variante *G>4268C* (Allele \*2, \*41, \*4, \*8, \*10 und \*17) mit 84% am häufigsten nachgewiesen. Die Variante *C>2938T* (Allele \*2, \*41,



\*8 und \*17) folgte mit 57,5%. Die Mutation *C>188T* (Allel \*4 und \*10) erreichte 44%, *G>1934A* (Allel\*4) 40,5% und *C>-1496G* (Allel \*2) 37,5%. Eine CYP2D6-Duplikation konnte in 13 Fällen (6,5%) detektiert werden. Die übrigen Mutationen *C>1111T* (Allel \*8) und *G>1846T* (Allel \*17) wurden nicht nachgewiesen.

Tabelle 36: Häufigkeit der detektierten CYP2D6-Mutationen unter 200 depressiven Patienten

| <b>Mutation<br/>nt*</b>                | <b>C&gt;<br/>-<br/>1496<br/>G</b> | <b>Del<br/>1795</b> | <b>G&gt;<br/>1934<br/>A</b> | <b>G&gt;<br/>1846<br/>T</b> | <b>DelA<br/>2637</b> | <b>2D6<br/>Del</b> | <b>2D6<br/>Dup</b> | <b>C&gt;<br/>188<br/>T</b> | <b>DelA<br/>2701-<br/>2703</b> | <b>C&gt;<br/>2938<br/>T</b> | <b>G&gt;<br/>4268<br/>C</b> | <b>C&gt;<br/>1111<br/>T</b> |
|--|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>nt**</b>                            | -<br>1584                         | 1707                | 1846                        | 1785                        | 2549                 |                    |                    | 100                        | 2613-<br>2615                  | 2850                        | 4180                        | 1023                        |
| *1                                     |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                |                             |                             |                             |
| *2                                     | x                                 |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                | x                           | x                           |                             |
| *41                                    |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                | x                           | x                           |                             |
| *3                                     |                                   |                     |                             |                             | x                    |                    |                    |                            |                                |                             |                             |                             |
| *4                                     |                                   |                     | x                           |                             |                      |                    |                    | x                          |                                |                             | x                           |                             |
| *5                                     |                                   |                     |                             |                             |                      | x                  |                    |                            |                                |                             |                             |                             |
| *6                                     |                                   | x                   |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                |                             |                             |                             |
| *8                                     |                                   |                     |                             | x                           |                      |                    |                    |                            |                                | x                           | x                           |                             |
| *9                                     |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            | x                              |                             |                             |                             |
| *10                                    |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    | x                          |                                |                             | x                           |                             |
| *17                                    |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                | x                           | x                           | x                           |
| *MxN                                   |                                   |                     |                             |                             |                      |                    | x                  |                            |                                |                             |                             |                             |
| <b>Häufigkeit<br/>der<br/>Mutation</b> |                                   |                     |                             |                             |                      |                    |                    |                            |                                |                             |                             |                             |
| n = 488                                | 75                                | 5                   | 81                          | 0                           | 3                    | 4                  | 13                 | 88                         | 10                             | 115                         | 168                         | 0                           |
| %                                      | 37,5                              | 2,5                 | 40,5                        | 0                           | 1,5                  | 2                  | 6,5                | 44                         | 5                              | 57,5                        | 84                          | 0                           |

nt\* Nukleosidposition entsprechend der Sequenz von Kimura et al., 1989, nt\*\*Nukleosidposition entsprechend der Sequenz von <http://www.imm.ki.se/CYPallels/cyp2D6.htm>, \*41 gibt die aktuelle Bezeichnung für die \*2-Promotorvariante an, x markiert die primär bei der Bestimmung der entsprechenden CYP2D6-Allele detektierte Mutation nach den Methoden von Sachse et al., 1997.

### 3.1.3 Häufigkeitsverteilung der detektierten CYP2D6-Allele

36,5% der untersuchten 200 Patienten besaßen das CYP2D6-Wildtyp-Allel \*1. An zweiter Stelle folgte das CYP2D6\*2-Allel mit 23%. Das \*2-Allel ist mit etwa der gleichen Aktivität assoziiert wie das \*1-Wildtyp-Allel (Raimundo et al., 2000). Das \*41-Allel besitzt eine geringere Aktivität und wurde in 14% der Fälle detektiert. CYP2D6-Allele mit fehlender Aktivität wurden insgesamt in 99 Fällen detektiert (25%). In dieser Gruppe stellte das CYP2D6\*4-Allel mit 22% den größten Anteil. Das CYP2D6\*3-Allel wurde nur in drei Fällen detektiert (0,75%). Die Duplikation wurde in 14 Fällen (3,5%) nachgewiesen. In der Gruppe der CYP2D6-Allele mit herabgesetzter Aktivität, wurde das Allel \*9 in 10 (2,5%) und das Allel \*10 in 9 (2,25%) Fällen detektiert.

Tabelle 37: Häufigkeit der CYP2D6-Allele unter 200 untersuchten depressiven Patienten

| Normale Aktivität |      |    |     | fehlende Aktivität |    |    |      |    | Duplikation |     | Herabgesetzte Aktivität |     |      |     |     |    |
|-------------------|------|----|-----|--------------------|----|----|------|----|-------------|-----|-------------------------|-----|------|-----|-----|----|
|                   | *1   | *2 | T   | *3                 | *4 | *5 | *6   | T  | *M x N      | T   | *8                      | *9  | *10  | *17 | *41 | T  |
| n = 400           | 146  | 91 | 237 | 3                  | 87 | 4  | 5    | 99 | 14          | 14  | 0                       | 10  | 9    | 0   | 56  | 75 |
| %                 | 36,5 | 23 | 59  | 0,75               | 22 | 1  | 1,25 | 25 | 3,5         | 3,5 | 0                       | 2,5 | 2,25 | 0   | 14  | 19 |

n = 426 ergibt sich aus der Summe der detektierten CYP2D6-Allele in einer Gruppe von 200 depressiven Patienten

### 3.2 Häufigkeit der CYP2C19-Genotypen

Die Unterscheidung in CYP2C19-EM-, -IM- und -PM-Metabolisierungstypen erfolgte nach der Einteilung von Brockmöller et al., 2000. Bei 7 (2%) von 334 Patienten konnte der *Poor-Metabolizer*-Status nachgewiesen werden. Sie besitzen kein aktives Allel. Zu den *Extensive-Metabolizern* mit zwei aktiven Allelen und dem \*1/\*1-Genotyp (Wildtyp) zählten 238 (71%) von 334 Patienten. Zu der Gruppe der *Intermediate-Metabolizers* mit einem aktiven CYP2C19-Allel gehörten 89 (27%) genotypisierte Personen. Bei der Berechnung der Allelhäufigkeit ergab sich eine Verteilung von 0,85 für das \*1-Allel und 0,15 für das \*2-Allel.

Die Frequenz der CYP2C19-Genotypen unterschied sich damit nicht von der in der kaukasischen Bevölkerung. Der Vergleich erfolgte anhand der Daten der Populationsstudien von Ferguson et al., 1997, Xie et al., 1999, und Bertilsson, 1995, werden. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.



Tabelle 38: Häufigkeit der CYP2C19-Genotypen unter 334 depressiven Patienten

| Genotyp 2C19  | Anzahl der aktiven CYP2C19-Allele (n) | Metabolisierungstyp | Anzahl (n) | Frequenz (%) | Frequenz (%) bei Kaukasiern * |
|---------------|---------------------------------------|---------------------|------------|--------------|-------------------------------|
| *1/*1         | 2                                     | EM                  | 238        | 71           | 73                            |
| *1/*2         | 1                                     | IM                  | 89         | 27           | 26                            |
| *2/*2         | 0                                     | PM                  | 7          | 2            | 2                             |
| <b>Gesamt</b> |                                       |                     | <b>334</b> | <b>100</b>   |                               |

\* Referenz nach Xie et al., 1999

### 3.3 Häufigkeit der CYP2C9-Genotypen und CYP2C9-Allele

CYP2C9\*2- und \*3-Varianten sind nicht funktionslos, sondern besitzen lediglich eine verminderte Aktivität. Dabei wird bei diesem Enzym die genetisch geschätzte Aktivität nicht wie bei CYP2D6 und CYP2C19 in *Poor*- (PMs), *Intermediate*- (IMs), *Extensive*- (EMs) und *Ultrarapid-Metabolizer* angegeben. Der \*1/\*1-Genotyp entspricht dem Wildtyp mit normaler Enzymaktivität und wurde in 223 von 334 Fällen (67%) detektiert. Die einzelnen Ergebnisse sind der Tabelle 39 zu entnehmen. Die Häufigkeit der hetero- und homozygoten CYP2C9-Genotypen wich nicht signifikant von der berechneten Frequenz nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz ( $a^2+2ab+b^2=1$ ) ab. Der *Chi-Quadrat*-Test war weder für die homozygoten CYP2C9-Genotypen (\*2/\*2 und \*3/\*3) noch für die heterozygoten Genotypen (\*1/\*2, \*1/\*3, und \*2/\*3) signifikant.

Tabelle 39: Häufigkeit der CYP2C9-Genotypen unter 334 depressiven Patienten

| Genotyp 2C9   | Anzahl (n) | Frequenz (%) | Chi-Quadrat* |
|---------------|------------|--------------|--------------|
| *1/*1         | 223        | 67           | 0,57         |
| *1/*2         | 61         | 18           | 0,33         |
| *1/*3         | 40         | 12           | 0,83         |
| *2/*2         | 5          | 1,5          | 0,25         |
| *2/*3         | 2          | 0,6          | 0,21         |
| *3/*3         | 3          | 0,9          | 0,15         |
| <b>Gesamt</b> | <b>334</b> | <b>100</b>   |              |

Zur Berechnung des *Chi-Quadrat*-Tests wurde die in dieser Arbeit beobachtete Frequenz der CYP2C9-Genotypen mit der der kaukasischen Normalbevölkerung verglichen. Die absoluten Werte zur Berechnung der erwarteten Häufigkeit sind dem Artikel von Lee et al., 2002, entnommen

Bei Auswertung der CYP2C9-Allelfrequenz (Tab. 40) kam das CYP2C9\*1-Allel mit einer Frequenz von 83% am häufigsten vor. Das \*2-Allel folgte mit 11% und das \*3-Allel mit 7%. Weder bei der Häufigkeitsverteilung der CYP2C9-Genotypen noch bei der Frequenz der Allele waren statistisch signifikante Unterschiede, verglichen mit der kaukasischen Normalbevölkerung, erkennbar (nach Lee et al., 2002).

Tabelle 40: Häufigkeit der CYP2C9-Allele unter 334 depressiven Patienten

| Allel | n = 668 | Frequenz (%) | Chi-Quadrat* |
|-------|---------|--------------|--------------|
| *1    | 557     | 83           | 0,17         |
| *2    | 73      | 11           | 0,45         |
| *3    | 48      | 7            | 0,77         |

n berechnet sich aus der Gesamtzahl der detektierten CYP2C9-Allele; \* zur Berechnung des *Chi Quadrat-Tests* wurde die in dieser Arbeit beobachtete Allelhäufigkeit mit der der kaukasischen Normalbevölkerung verglichen anhand der Werte von Lee et al., 2002

### **3.4 Art der diagnostizierten Depression ; Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression (CGI, GAS und Hamilton-Score) und der Anzahl der aktiven Allele und dem Geschlecht**

Der folgende Abschnitt untersucht den Zusammenhang zwischen der Anzahl der aktiven CYP2D6- und CYP2C19-Allele und der Schwere der Depression vor Therapiebeginn. Der Schweregrad der Depression und die krankheitsbedingte Beeinträchtigung des Patienten wurden mittels der *Clinical Global Impression*, der *Global Assessment Scale* und der *Hamilton Depression Rating Scale* dokumentiert. Aufgrund der Tatsache, dass das Cytochrom-P450-CYP2C9-Enzym in weit geringerem Ausmaß an der Verstoffwechslung von Antidepressiva beteiligt ist als die beiden genannten Cytochrom-Enzyme (CYP2D6 und CYP2C19), wurde auf eine spezifische Auswertung von CYP2C9 verzichtet.

#### **3.4.1 Art und Häufigkeit der ICD-Diagnosen unter 233 depressiven Patienten**

Von den insgesamt 334 Patienten, bei denen wir die wichtigen defekten CYP2D6-Allele \*3, \*4, \*6, \*5, die CYP2D6-Duplikation, den CYP2C19- und den CYP2C9-Genotyp bestimmt haben, wurden 200 Patienten zusätzlich für die CYP2D6-Allele \*8, \*9, \*10, \*17, \*2 und \*41 untersucht. Klinische Fragebögen mit Angaben zur Anamnese, Diagnose, Therapieverlauf und Nebenwirkungsprofil wurden von 233 Patienten ausgewertet. Die klinischen Daten zu den Genotypisierungsuntersuchungen von 101 Patienten, die in der Gemeindepsychiatrischen Klinik Wilmersdorf (ö.B. Eschenallee) stationär aufgrund einer depressiven Erkrankung behandelt wurden, standen zum Zeitpunkt dieser Auswertung noch nicht zur Verfügung.

In der Tabelle 41 sind die Häufigkeiten der ICD-10-Diagnosen unter 233 hospitalisierten depressiven Patienten dargestellt. Mit 23% wurde am häufigsten die Diagnose einer schweren depressiven Episode ohne psychotische Symptomatik (F32.3) gestellt. An zweiter Stelle folgte die Anpassungsstörung (F43.2) mit 18%. Sie ging in jedem der diagnostizierten Fälle mit einer depressiven Störung einher. Eine depressive Episode (F32) ohne weitere Spezifi-

zierung wurde in 14% der Fälle beobachtet; auch 14% der Patienten erfüllten die Kriterien einer rezidivierenden depressiven Störung mit gegenwärtig schwerer depressiver Episode ohne psychotische Symptomatik. Bei 12% wurde eine mittelgradig depressive Episode diagnostiziert. Die Frequenz der verbleibenden Diagnosen lag unter 4% und ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle 41: Art und Häufigkeit der diagnostizierten Depression unter 233 hospitalisierten Patienten anhand des ICD-Diagnose-Schlüssels

| ICD-10 | Diagnose ICD-10  | Anzahl (n) | Frequenz (%) |
|--------|--|------------|--------------|
| 25.1   | Schizoaffective Störung, gegenwärtig depressiv   | 2          | 0,9          |
| 31     | Bipolare affektive Störung   | 2          | 0,9          |
| 31.3   | Bipolare affektive Störung, gegenwärtig leichte oder mittelgradig depressive Episode       | 2          | 0,9          |
| 31.4   | Bipolare affektive Störung, gegenwärtig schwere depressive Episode                         | 7          | 3            |
| 32     | Depressive Episode   | 32         | <b>14</b>    |
| 32.1   | Mittelgradige depressive Episode   | 29         | <b>12</b>    |
| 32.2   | Schwere depressive Episode ohne psychotische Symptome                                      | 54         | <b>23</b>    |
| 32.3   | Schwere depressive Episode mit psychotischen Symptomen                                     | 5          | 2,2          |
| 33     | Rezidivierende depressive Störung  | 1          | 0,4          |
| 33.1   | Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig mittelgradige Episode                       | 7          | 3            |
| 33.2   | Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode ohne psychotische Symptome  | 32         | <b>14</b>    |
| 33.3   | Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode mit psychotischen Symptomen | 6          | 2,6          |
| 34.1   | Dystymia   | 3          | 1,3          |
| 41     | Andere Angststörungen  | 2          | 0,9          |
| 41.1   | Generalisierte Angststörung  | 1          | 0,4          |
| 41.2   | Angst und depressive Störung gemischt  | 2          | 0,9          |
| 43     | Reaktionen auf schwere Belastungen und Anpassungsstörungen                                 | 1          | 0,4          |
| 43.2   | Anpassungsstörungen  | 42         | <b>18</b>    |
| xx     | Nicht näher klassifizierte Depression  | 3          | 1,3          |
|        |  | <b>233</b> | <b>100</b>   |

Die häufig festgestellten ICD-10-Diagnosen sind **fett** markiert

### 3.4.2 Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

Die Mittelwerte in der *Global Assessment Scale* (GAS) unter 233 Patienten in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele unterschieden sich, bei Betrachtung der Standardabweichungen, nicht signifikant voneinander. Die Werte lagen im Bereich zwischen 31-40 bei einer Skalierung von 0-100 (in 10er Stufen). Das bedeutet eine Beeinträchtigung in der Realitätskontrolle oder der Kommunikation oder eine starke Beeinträchtigung in mehreren Bereichen, wie z.B. in der Arbeit, der Schule oder in familiären Beziehungen. Auch eine Korrelation zwischen der Summe der Items in der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS1) und der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele war nicht zu erkennen. Der HDRS-Mittelwert in der Gesamtgruppe war 35, was nach der Einteilung von *Rabkin und Klein, 1987* ein schweres depressives Syndrom anzeigt. Bei der Auswertung der *Clinical Global Impression* zum ersten Untersuchungszeitpunkt (CGI1), wurde nur der Schweregrad der Krankheit eingeschätzt auf einer Skalierung von 0-7. Die Gesamtbeurteilung der Zustandsänderung (Zeit seit Beginn der

Behandlung) sowie die therapeutische Wirksamkeit (gewünschte und unerwünschte Wirkungen) konnten zu diesem Zeitpunkt noch nicht beurteilt werden und wurden entsprechend auf einer Skala von 0-7 bzw. von 0-4 mit 0 bewertet. Die Auswertung der CGI1 ergab einen Mittelwert von 5, der dem Schweregrad der Krankheit „Patient ist deutlich krank“ entspricht.

Tabelle 42: Korrelation zwischen initialer Schwere der Depression (HDRS1, GAS1 und CGI1) und Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

|                  | Anzahl aktiver CYP2D6- Allele | Gültige Fälle (n) | Mittelwert | Standard-abweichung |
|------------------|-------------------------------|-------------------|------------|---------------------|
| <b>GAS1</b>      | 0                             | 15                | 33,5       | 11,5                |
|                  | 1                             | 76                | 37,3       | 11,2                |
|                  | 2                             | 133               | 38,7       | 12,3                |
|                  | 3                             | 9                 | 39,6       | 13,3                |
| <b>SUM-HDRS1</b> | 0                             | 15                | 33,8       | 6,48                |
|                  | 1                             | 76                | 39,9       | 31,6                |
|                  | 2                             | 133               | 37,1       | 29,0                |
|                  | 3                             | 9                 | 27,4       | 3,88                |
| <b>CGI1</b>      | 0                             | 15                | 5,20       | 0,56                |
|                  | 1                             | 76                | 5,12       | 0,71                |
|                  | 2                             | 133               | 5,01       | 0,69                |
|                  | 3                             | 9                 | 5,11       | 0,93                |

GAS1: *Global Assessment Scale* am Tag 3; SUM-HDRS1: Summe der Items aus der *Hamilton Depression Rating Scale* am Tag 3; CGI1: *Clinical Global Impression* am Tag 3

### 3.4.3 Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und dem CYP2C19-Genotyp

Ebenso erfolgte die Beurteilung der initialen Schwere der Depression in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp. Die Mittelwerte in der *Global Assessment Scale* unterschieden sich zwischen CYP2C19-\*1/\*1, -\*1/\*2 und -\*2/\*2 nicht signifikant voneinander. Auch die Auswertung der *Hamilton Depression Rating Scale* und der *Clinical Global Impression* ließ keine Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp erkennen. Tendenziell zeigten die Patienten in Tab. 43 vergleichbare Mittelwerte wie die CYP2D6-Patientengruppe in der Tabelle 42.

Tabelle 43: Korrelation zwischen initialer Schwere der Depression (HDRS1, GAS1 und CGI1) und CYP2C19-Genotyp

|                 | 2C19 Genotyp | Gültige Fälle (n) | Mittelwert | Standard-abweichung |
|-----------------|--------------|-------------------|------------|---------------------|
| <b>GAS1</b>     | 11           | 168               | 37,7       | 12,0                |
|                 | 12           | 62                | 38,8       | 11,5                |
|                 | 22           | 3                 | 38,0       | 27,8                |
| <b>SUMHDRS1</b> | 11           | 168               | 37,1       | 27,8                |
|                 | 12           | 62                | 38,7       | 31,1                |
|                 | 22           | 3                 | 26,7       | 10,0                |
| <b>CGI1</b>     | 11           | 168               | 5,03       | 0,69                |
|                 | 12           | 62                | 5,13       | 0,71                |
|                 | 22           | 3                 | 5,33       | 1,16                |

GAS1: *Global Assessment Scale* (Tag 3); SUMHDRS1: Summe der Items aus der *Hamilton Depression Rating Scale* am Tag 3; CGI1: Summe der Items aus der *Clinical Global Impression* am Tag 3

### 3.4.4 Korrelation zwischen der initialen Schwere der Depression und dem Geschlecht

Von 233 an Depression erkrankten Patienten gehörten 145 dem weiblichen und 88 dem männlichen Geschlecht an. Die Dokumentation und Auswertung des Schweregrades der Erkrankung vor Beginn der Therapie ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Die entsprechenden Werte sind der Tabelle 44 zu entnehmen. Vergleicht man die Mittelwerte der einzelnen Messinstrumente (GAS, HDRS und CGI) mit den Werten der Tabelle 42 und 43 (Schwere der Depression versus Genotyp), lässt sich eine tendenzielle Übereinstimmung zwischen allen drei Gruppen feststellen.

Tabelle 44: Korrelation zwischen initialer Schwere der Depression (HDRS1, GAS1 und CGI1) und Geschlecht

|                  | Geschlecht | Gültige Fälle (n) | Mittelwert | Standard-abweichung |
|------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|
| <b>GAS1</b>      | männlich   | 88                | 37,6       | 12,0                |
|                  | weiblich   | 145               | 38,2       | 12,0                |
| <b>SUM HDRS1</b> | männlich   | 88                | 37,1       | 28,8                |
|                  | weiblich   | 145               | 37,6       | 28,4                |
| <b>CGI1</b>      | männlich   | 88                | 5,11       | 0,65                |
|                  | weiblich   | 145               | 5,03       | 0,73                |

GAS: *Global Assessment Scale* (Tag 3); SUMHDRS1: Summe der Items aus der *Hamilton Depression Rating Scale* am Tag 3; CGI1: Summe der Items aus der *Clinical Global Impression* am Tag 3

### 3.5 Anzahl der verordneten Antidepressiva mit Unterscheidung zwischen CYP2D6- und CYP2C19-Substrate; Korrelation zwischen der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele bzw. dem CYP2C19-Genotyp und der Therapieresponse

#### 3.5.1 Über CYP2D6 und CYP2C19 verstoffwechselte Antidepressiva

Die folgende Tabelle gibt die Anzahl der verordneten Antidepressiva nach ihrem vorrangigen Abbau über das CYP2D6- bzw. CYP2C19-Enzym wieder. Von 310 Verordnungen wurde am häufigsten (in 95 Fällen) das Antidepressivum Mirtazapin gewählt. An zweiter und dritter Stelle folgten Venlafaxin (42mal) und Citalopram (41mal). Dabei werden Mirtazapin und Venlafaxin vorrangig über CYP2D6 und der Serotonin-Wiederaufnahmehemmer Citalopram über CYP2C19 abgebaut. Von der Anzahl der Verordnungen etwa gleich häufig wurden die zu den klassischen trizyklischen Antidepressiva gehörigen Medikamente Doxepin (22mal), Paroxetin (21mal) und Amitriptylin (21mal) verschrieben. Amitriptylin und Doxepin wird sowohl über CYP2D6 als auch über CYP2C19 verstoffwechselt, Paroxetin nur über CYP2D6. Der reine Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer Reboxetin ist nicht abhängig von der Meta-

bolisierungskapazität der Cytochrom-P450-Enzyme. Er wurde in 18 Fällen verschrieben. Die verbleibenden Wirkstoffe wurden zwischen 2 und 12mal weniger häufig gewählt (Tab.45). Mit Mirtazapin, Venlafaxin und Citalopram als häufig gewählter Wirkstoff war eine Tendenz zur Verschreibung der neueren Antidepressiva erkennbar. Insgesamt wurden in 93,5% der Fälle Antidepressiva verordnet, die über die polymorphen Enzyme CYP2D6 und/oder CYP2C19 verstoffwechselt werden.

Tabelle 45: Anzahl der Antidepressiva-Verordnungen mit Unterscheidung zwischen CYP2D6- und CYP2C19-Substraten

| INN*                        | Anzahl von INN* | CYP2D6 | CYP2C19 |
|-----------------------------|-----------------|--------|---------|
| Amitriptylin                | 21              | 1      | 1       |
| Citalopram                  | 41              | 0      | 1       |
| Clomipramin                 | 5               | 1      | 1       |
| Doxepin                     | 22              | 1      | 1       |
| Fluoxetin                   | 10              | 1      | 0       |
| Johanniskraut               | 2               | 0      | 0       |
| Mirtazapin                  | 95              | 1      | 0       |
| Moclobemid                  | 4               | 0      | 1       |
| Nortriptylin                | 1               | 1      | 0       |
| Paroxetin                   | 21              | 1      | 0       |
| Reboxetin                   | 18              | 0      | 0       |
| Sertralin / Sertralin-HCL   | 18              | 1      | 0       |
| Trazodon                    | 1               | 1      | 0       |
| Trimipramin                 | 9               | 1      | 1       |
| Venlafaxin / Venlafaxin-HCL | 42              | 1      | 0       |
| <b>Gesamt</b>               | 310             |        |         |

\* INN: Medikamenten-Wirkstoff; **1**: wird von dem entsprechenden Enzym metabolisiert; **0**: wird nicht von dem entsprechenden Enzym metabolisiert

### 3.5.2 Therapieresponse in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

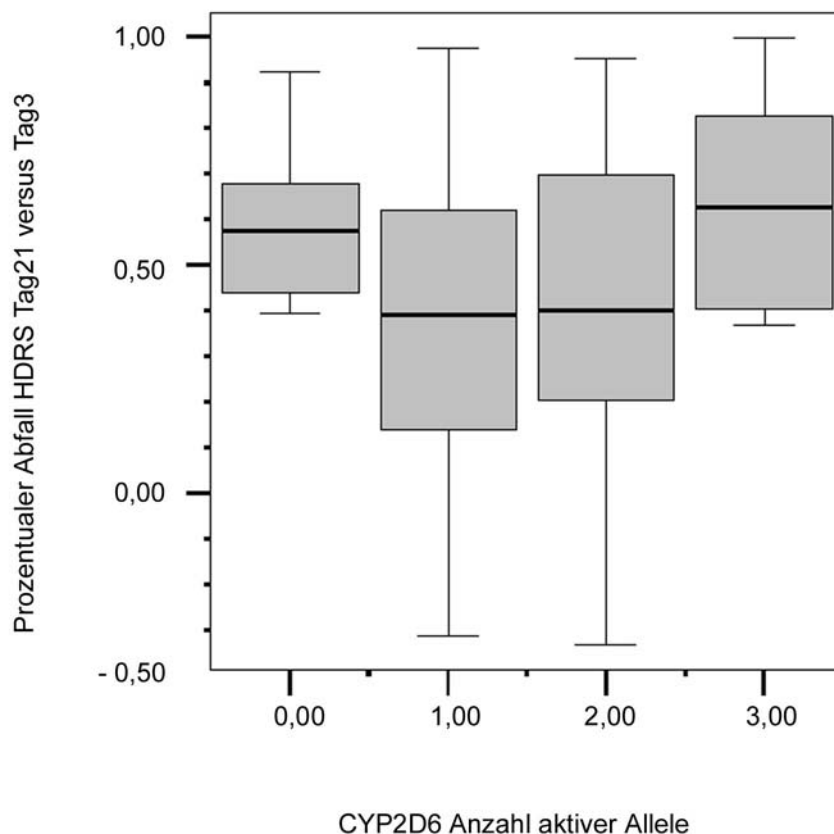
Für die Auswertung der therapeutischen Effektivität in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele standen die klinischen Daten von 118 Patienten, die sich länger als 3 Wochen in stationärer Behandlung befanden, zur Verfügung. Alle mit Antidepressiva behandelten Personen der vier CYP2D6-Gruppen mit 0, 1, 2 und mehr aktiven Allelen erhielten Substrate, die über CYP2D6 abgebaut werden. Die Summe der Items in der HDRS am Tag 21, d.h. drei Wochen nach Therapiebeginn, zeigte einen deutlichen Abfall mit einem Mittelwert von 9-12 Punkten im Vergleich zu 26-33 Punkten in der HDRS1 zu Beginn der Studie. Gemessen als prozentualer Wert ergab sich ein Abfall um 40-63% (Tab. 46). Obwohl sich eine größere Differenz zwischen den Mittelwerten der HDRS1 und der HDRS2 (DIFFH2-1) in der Gruppe der *Poor-Metabolizer* im Vergleich zu der der *Ultrarapid-Metabolizer* zeigte, waren die Ausgangs- und Endwerte im Mittel in der PM-Gruppe (HDRS1 und HDRS2) insgesamt höher. In Anbetracht der großen Überschneidungen in den Standardabweichungen

erreichten die Unterschiede zwischen den CYP2D6-Gruppen keine statistische Signifikanz. Schematisch ist der prozentuale Abfall der HDRS am Tag 21 im Vergleich zur HDRS am Tag 3 als Boxplot (Abb. 20) dargestellt.

Tabelle 46: Therapieresponse in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

|                 | Aktive CYP2D6-Allele | Gültige Fälle (n) | Mittelwert | Standardabweichung |
|-----------------|----------------------|-------------------|------------|--------------------|
| <b>SUMHDRS1</b> | 0                    | 6                 | 33         | 5,48               |
|                 | 1                    | 37                | 30,2       | 7,06               |
|                 | 2                    | 67                | 29,7       | 7,93               |
|                 | 3                    | 8                 | 26,3       | 3,06               |
| <b>SUMHDRS2</b> | 0                    | 6                 | 12,8       | 5,98               |
|                 | 1                    | 37                | 18,1       | 11                 |
|                 | 2                    | 67                | 17,3       | 10                 |
|                 | 3                    | 8                 | 9,38       | 6,3                |
| <b>DIFFH1-2</b> | 0                    | 6                 | 20,2       | 8,41               |
|                 | 1                    | 37                | 12,1       | 10,3               |
|                 | 2                    | 67                | 12,7       | 9,35               |
|                 | 3                    | 8                 | 16,9       | 7,64               |
| <b>PERCENTH</b> | 0                    | 6                 | 59,8%      | 19%                |
|                 | 1                    | 37                | 40%        | 32,8 %             |
|                 | 2                    | 67                | 42,8%      | 30,4 %             |
|                 | 3                    | 8                 | 63,4%      | 23,8%              |

Therapieresponse gemessen als Differenz der Summenscores der HDRS2 (Tag 21) zur HDRS1 (Tag 3), berechnet als prozentualer Abfall (PERCENTH); SUMHDRS1 und SUMHDRS2: Summe der Items in der HDRS am Tag 3 und am Tag 21; die Auswertung erfolgte nur für die Patienten, die CYP2D6-Substrate erhielten



**Abbildung 20: Prozentualer Abfall HDRS Tag 21 versus HDRS Tag 3 in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allelen**

### 3.5.3 Therapieresponse in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp

Aufgrund der zu geringen Fallzahl konnte die Auswertung nur für den CYP2C19\*1/\*1- und \*1/\*2-Genotyp erfolgen. Sie wurde für insgesamt 59 Patienten, die CYP2C19-Substrate erhielten, durchgeführt. Die Summe der Items in der HDRS am Tag 21, d.h. drei Wochen nach Therapiebeginn, zeigte eine Besserung bezüglich der Schwere der Depression. Der Mittelwert lag bei 14-18 Punkten im Vergleich zu 18-30 Punkten in der HDRS1 zu Beginn der Studie. Die Differenz zwischen beiden Summenscores der HDRS betrug 12 und 13 Punkte. Berechnet als prozentualer Abfall ergab sich im Mittel ein Wert von 39% und 45%. Die Anwendung des *T-Tests* für die Mittelwertigkeit auf die Ergebnisse des PERCENTH zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden CYP2C19-Genotypgruppen \*1/\*1 und \*1/\*2. Dargestellt als Boxplot ist der prozentuale Abfall (HDRS2 am Tag 21 versus HDRS1 am Tag 3 in der Abbildung 21).



Tabelle 47: Therapieresponse unter Antidepressiva-Gabe in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp

|          | CYP2C19-Genotyp | Gültige Fälle (n) | Mittelwert | Standardabweichung |
|----------|-----------------|-------------------|------------|--------------------|
| SUMHDRS1 | 11              | 40                | 30,3       | 9,2                |
|          | 12              | 19                | 28,1       | 6,84               |
| SUMHDRS2 | 11              | 40                | 18,2       | 10,1               |
|          | 12              | 19                | 14,6       | 10,3               |
| DIFFH1-2 | 11              | 40                | 12,1       | 9,66               |
|          | 12              | 19                | 13,5       | 11,5               |
| PERCENTH | 11              | 40                | 39%        | 0,3                |
|          | 12              | 19                | 45,7%      | 0,4                |

PERCENTH: Prozentualer Abfall der Werte in der *Hamilton Depression Rating Scale* vom Tag 3 zu Tag 21; DIFFH1-2: Differenz der Werte in der HDRS zwischen Tag 3 und Tag 21; SUMHDRS1 und SUMHDRS2: Summe der Items in der HDRS am Tag 3 und am Tag 21; die Auswertung erfolgte nur für Patienten, die CYP2C19-Substrate erhielten

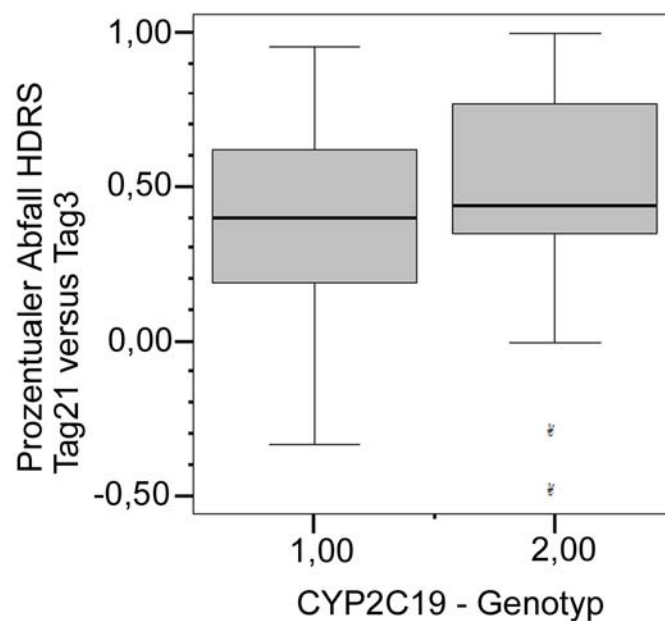


Abbildung 21: Prozentualer Abfall HDRS Tag 21 versus HDRS Tag 3 in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp

### 3.6 Nebenwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

Die Erfassung der Nebenwirkungsrate in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp unter der medikamentösen Antidepressiva-Therapie erfolgte zwischen dem 20.-22. Tag nach Therapiebeginn mit Hilfe der *UKU Side Effect Rating Scale* (Acta Psychiatrica Scandinavia, 1987). Zur Auswertung stand die ärztliche Dokumentation der aufgetretenen unerwünschten Arznei-

mittelwirkung (UAWs) zur Verfügung. Da die Nebenwirkungen ihrer Anzahl nach aufgrund ihrer unterschiedlichen Schwere und Beeinträchtigung des Patienten nicht summiert werden konnten, sind die häufigsten und die seltenen schwerwiegenden Nebenwirkungen in der Tabelle 48 dargestellt. Angaben über die einzelnen Nebenwirkungen standen von 147 Patienten zur Verfügung. Dabei wurde Mundtrockenheit bei 45 Patienten dokumentiert. Zwischen 22 und 25 Personen litten unter Müdigkeit, Schwitzen und innerer Unruhe. Bei 17 Patienten wurde ein Tremor beobachtet. Zu den schwerwiegenden Nebenwirkungen, die in 1-3 Fällen dokumentiert wurden, gehörten Harnverhalt, Akathisie und die Entwicklung psychotischer Symptome. Zwei Patienten begingen nach Therapiebeginn Suizid. Andere UAWs, die nicht zu den schwerwiegenden Begleiterscheinungen zählen, traten bei unter 5 von 147 Patienten auf und sind in der Tabelle nicht einzeln aufgeführt. Die Verteilung der aktiven CYP2D6-Allele im Zusammenhang mit der Nebenwirkungsrate unterschied sich nicht sichtbar von dem prozentualen Vorkommen in der gesamten Studienpopulation (Kap. 3.1.1). Eine Abhängigkeit der Nebenwirkungsrate von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele ist daher nicht zu erkennen.

Tabelle 48: Nebenwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

| Patienten (Gesamt: n=147)     |    |      | Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele |          |          |         |          |      |  |
|-------------------------------|----|------|----------------------------------|----------|----------|---------|----------|------|--|
| Häufige UAWs:                 | Ja | Nein | 0 (n=9)                          | 1 (n=49) | 2 (n=79) | 3 (n=9) | * (n=1)  |      |  |
| Mundtrockenheit               | 45 | 102  | 1 (11%)                          | 16 (33%) | 26 (33%) | 1 (11%) | 1 (100%) |      |  |
| Müdigkeit                     | 25 | 122  | 1 (11%)                          | 10 (20%) | 12 (15%) | 2 (22%) |          |      |  |
| Schwitzen                     | 22 | 125  | 1 (11%)                          | 7 (14%)  | 12 (15%) | 2 (22%) |          |      |  |
| Innere Unruhe                 | 22 | 125  | 1 (11%)                          | 9 (18%)  | 9 (11%)  | 3 (33%) |          |      |  |
| Tremor                        | 17 | 130  | 1 (11%)                          | 5 (10%)  | 8 (10%)  | 2 (22%) | 1 (100%) |      |  |
| Obstipation                   | 14 | 133  | 1 (11%)                          | 4 (8%)   | 8 (10%)  | 1 (11%) |          |      |  |
| Sonstige UAWs                 | 14 | 133  | 0 (0%)                           | 3 (6%)   | 5 (6%)   | 1 (11%) |          |      |  |
| Schwindel                     | 12 | 135  | 1 (11%)                          | 4 (8%)   | 7 (9%)   | 0 (0%)  |          |      |  |
| Orthostatische Störungen      | 11 | 136  | 2 (22%)                          | 2 (4%)   | 7 (9%)   | 0 (0%)  |          |      |  |
| Akkommodationsstörung         | 11 | 136  | 1 (11%)                          | 4 (8%)   | 5 (6%)   | 0 (0%)  | 1 (100%) |      |  |
| Schlafstörung                 | 10 | 137  | 0 (0%)                           | 3 (6%)   | 5 (6%)   | 1 (11%) |          |      |  |
| Tachykardie                   | 8  | 139  | 0 (0%)                           | 4 (8%)   | 3 (4%)   | 1 (11%) |          |      |  |
| Sexuelle Funktionsstörung     | 8  | 139  | 0 (0%)                           | 2 (4%)   | 5 (6%)   | 1 (11%) |          |      |  |
| Seltene schwerwiegende UAWs * |    |      |                                  |          |          |         | Ja       | Nein |  |
| „Suizidalität“                |    |      |                                  |          |          |         | 2        | 145  |  |
| Harnverhalt                   |    |      |                                  |          |          |         | 1        | 146  |  |
| Akathisie                     |    |      |                                  |          |          |         | 3        | 144  |  |
| Psychotische Symptome         |    |      |                                  |          |          |         | 1        | 146  |  |

Auswertung der häufigen UAWs in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele; \* die schwerwiegenden UAWs wurden aufgrund ihres seltenen Auftretens bezüglich der CYP2D6-Allele nicht ausgewertet; \* (n=1): Der Genotyp wurde nicht bestimmt; die Prozentzahlen errechnen sich: n mit UAWs und Anzahl der 0, 1, 2 oder 3 Allele / n Gesamtanzahl der 0, 1, 2 oder 3 Allele

### 3.7 Langzeitresponse (Hamilton, CGI und GAS) in Abhängigkeit der aktiven CYP2D6-Allele und des CYP2C19-Genotyps

#### 3.7.1 Korrelation zwischen Langzeitresponse (CGI und GAS) und Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

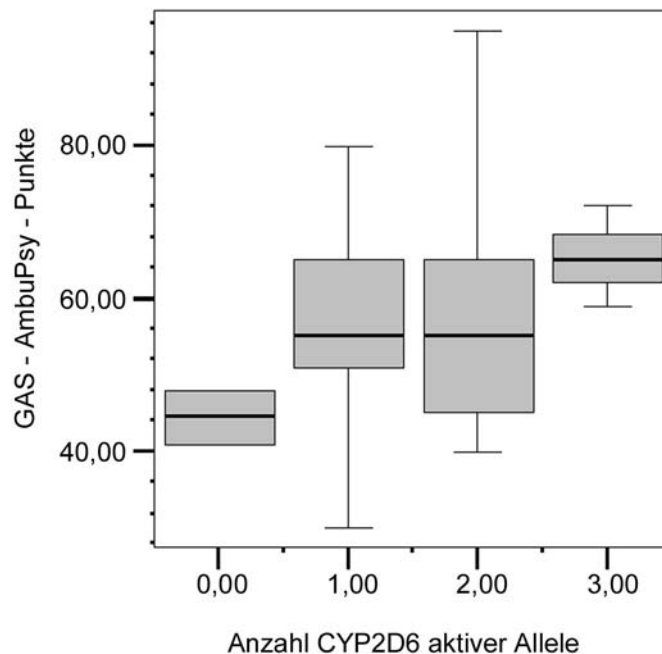
Für die Auswertung der Langzeitresponse standen 34 klinische Patientendaten zur Verfügung. Die *Hamilton Depression Rating Scale* und die *Global Assessment Scale* wurden erneut ambulant in der Katamnesuntersuchung 3 Monate, die *Clinical Global Impression* noch während des stationären Aufenthaltes 3 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführt.

Die Ergebnisse in der der Tabelle 49 zeigen, dass die Gruppe mit drei aktiven Allelen im Vergleich zu den anderen (PM: 44,5, IM: 55, EM: 55) drei Monate nach Therapiebeginn die höchsten Medianwerte (UM: 65) in der *Global Assessment Scale* aufwies. Das entsprach der größten Differenz (UM: 34) zwischen den Werten der GAS1 und der GAS ambulant, berechnet als DIFGAS. Bei einer Skalierung von 0-100, abgestuft in 10er-Schritten, stellte der Unterschied von 34 Punkten in der Gruppe der *Ultrarapid-Metabolizers* eine Steigerung von 3-4 Stufen dar. Das bedeutet eine deutliche Besserung des Funktionsniveaus im Vergleich zum Therapiebeginn. Die Werte der PMs, IMs und EMs lagen mit 12,5-14,5 Punkten in der DIFGAS nahe beieinander. Zur Veranschaulichung sind die ambulanten GAS-Werte abhängig von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele im folgenden Boxplot (Abb. 22) dargestellt. Die Anwendung des *Jonckheere-Terpstra-Tests* ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen CYP2D6-Gruppen. Die Summenwerte der CGI2, gemessen am Tag 21, lagen mit 10-11,5 Punkten nahe beieinander. Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen CYP2D6-Metabolisierungsgruppen feststellen.

Tabelle 49: Auswertung der GAS und der CGI unter dem Gesichtspunkt der Langzeitresponse in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

|                            | Aktive CYP2D6-Allele | Gültige Fälle (n) | Median | Min. | Max. | p-Wert (Jonckheere-Terpstra-Test) |
|----------------------------|----------------------|-------------------|--------|------|------|-----------------------------------|
| <b>GAS-Ambu Psy-Punkte</b> | 0                    | 2                 | 45     | 41   | 48   |                                   |
|                            | 1                    | 11                | 55     | 30   | 80   |                                   |
|                            | 2                    | 18                | 55     | 40   | 95   |                                   |
|                            | 3                    | 3                 | 65     | 59   | 72   |                                   |
| <b>DIFGAS</b>              | 0                    | 2                 | 15     | 6    | 23   | n.s.                              |
|                            | 1                    | 11                | 14     | -25  | 50   |                                   |
|                            | 2                    | 18                | 13     | -5   | 45   |                                   |
|                            | 3                    | 3                 | 34     | 19   | 37   |                                   |
| <b>SUMCGI2</b>             | 0                    | 2                 | 12     | 11   | 12   |                                   |
|                            | 1                    | 11                | 10     | 6    | 14   |                                   |
|                            | 2                    | 18                | 10     | 5    | 17   |                                   |
|                            | 3                    | 3                 | 11     | 8    | 14   |                                   |

GAS-AmbuPsy-Punkte: Ergebnis der ambulant (3 Monate nach Therapiebeginn) durchgeführten *Global Assessment Scale*; SUMCGI2: Summenscore der am Tag 21 durchgeführten *Clinical Global Impression*; DIFGAS: Differenz der GAS-Werte (Tag 3 versus 3 Monate)



**Abbildung 22: Ambulante (3 Monate nach Medikations-/Studienbeginn)**  
**GAS-Werte in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele**

### 3.7.2 Korrelation zwischen Langzeitresponse (HDRS) und Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

Zur Beurteilung der Langzeitresponse mit Hilfe der *Hamilton Depression Rating Scale* standen 54 Erhebungsbögen zur Verfügung. Als Messinstrument der Therapieresponse diente der prozentuale Abfall der Werte in der HDRS drei Monate nach Therapiebeginn, berechnet als  $1 - \text{HDRS Tag 21} / \text{HDRS Tag 3} = \text{PERCENTH}$ . Dieser lag im Vergleich zu den beiden zuvor ermittelten Summenscores (HDRS1 und 2) für die Gruppe der UMs im Median deutlich niedriger (7,4%) als in den anderen Gruppen, die Werte zwischen 45%-64% aufwiesen (Tab. 50). Die Trend-Testung für CYP2D6 (*Jonckheere-Terpstra-Test*) ergab einen p-Wert von 0,04 für die Testung  $\text{PM} > \text{IM} > \text{EM} > \text{UM}$ . Das entspricht einem schwach signifikanten Trend für eine schlechtere Langzeitresponse in der Gruppe der *Ultrarapid-Metabolizer* im Vergleich zu den anderen CYP2D6-Gruppen. Das Ergebnis ist als Boxplot in Abb. 23 dargestellt.

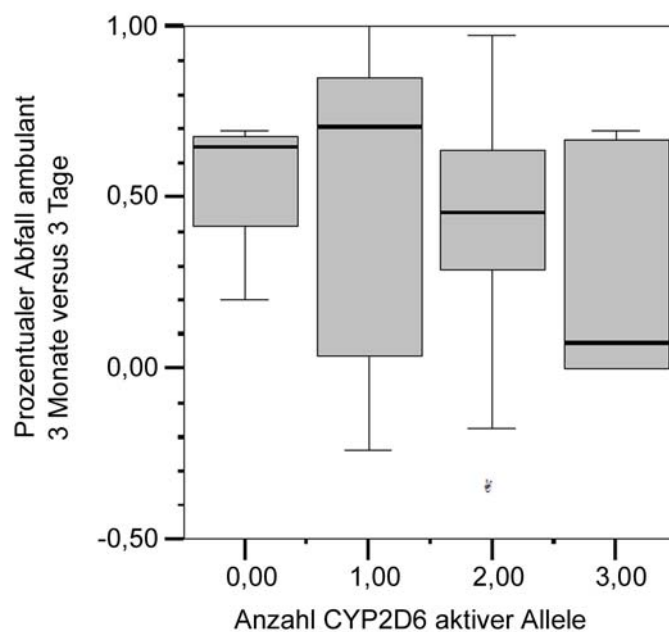
Die Differenzierung in Therapie-Responder- und Non-Responder in Abhängigkeit vom CYP2D6-Metabolisierungstyp bestätigte diesen Trend. Dabei erreichten 75% der PMs einen  $>50\%$ igen Abfall der HDRS-Werte in der Katamneseauswertung während es in der UM-Gruppe nur 40% waren.

Tabelle 50: Prozentuale Veränderung der ambulanten im Vergleich zu den vorhergehenden HDRS-Werten (HDRS1 und HDRS2)

|                 | aktive CYP-2D6-Allele | Gültige Fälle (n=54) | Median | Min. | Max. | p-Wert (Jonkheere-Terpstra-Test) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|--------|------|------|----------------------------------|
| <b>PERCENTH</b> | 0                     | 4                    | 65     | 0,2  | 0,7  | 0,04                             |
|                 | 1                     | 18                   | 70     | -3,4 | 1    |                                  |
|                 | 2                     | 27                   | 46     | -11  | 1    |                                  |
|                 | 3                     | 5                    | 7      | -3   | 0,7  |                                  |

| CYP2D6-Genotyp | Gesamt (n=54) | Responder (n) | %   | Non-Responder (n) | %   |
|----------------|---------------|---------------|-----|-------------------|-----|
| <b>PM</b>      | 4             | 3             | 75% | 1                 | 25% |
| <b>IM</b>      | 18            | 12            | 67% | 6                 | 33% |
| <b>EM</b>      | 27            | 12            | 44% | 15                | 56% |
| <b>UM</b>      | 5             | 2             | 40% | 3                 | 60% |

PERCENTH: 1 minus HDRS Tag 21/ HDRS Tag 3; Responder haben einen >50%igen Abfall der HDRS-Werte in der Katamneseuntersuchung, Non-Responder einen Abfall <50%



**Abbildung 23: Prozentualer Abfall HDRS ambulant 3 Monate versus 3 Tage nach Medikations-/Studienbeginn in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele**

### 3.7.3 Korrelation zwischen Langzeitresponse (GAS und HDRS) und CYP2C19-Genotyp

Die Auswertung von 34 Katamnesebögen für die *Global Assessment Scale* (GAS ambulant und DIFGAS) ergaben bei Betrachtung der Median-, Minimal- und Maximalwerte keine signifikanten Unterschiede zwischen dem CYP2C19-Genotyp \*1/\*1 und \*1/\*2. In der ambulant durchgeführten GAS unterschieden sich die Werte der beiden Gruppen mit 60 und 52 kaum voneinander. Beide lagen im Bereich von 60-51 (Skalierung von 0-100 in 10er Stufen), was einer generellen Besserung des Gesamtzustandes von drei Stufen im Vergleich zum Therapiebeginn mit nur noch mäßig ausgeprägten Symptomen entspricht. Auch der prozentuale Abfall der HDRS-Werte (PERCENTH) drei Monate nach Therapiebeginn in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp ergab unter 34 Patienten keine sichtbaren Unterschiede. Insgesamt waren die Fallzahlen zu gering, um statistische Berechnungen für die gemessenen Parameter durchzuführen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 51 dargestellt.

Tabelle 51: Auswertung der GAS und der HDRS unter dem Gesichtspunkt der Langzeitresponse in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp

|                        | CYP2C19-Genotyp | Gültige Fälle (n=34) | Median | Min. | Max. |
|------------------------|-----------------|----------------------|--------|------|------|
| GAS-Ambu<br>Psy-Punkte | 11              | 23                   | 60     | 30   | 95   |
|                        | 12              | 11                   | 52     | 41   | 95   |
| DIFGAS                 | 11              | 23                   | 23     | -25  | 45   |
|                        | 12              | 11                   | 11     | -0,2 |      |
| PERCENTH               | 11              | 36                   | 53%    | -11  | 1    |
|                        | 12              | 17                   | 60%    | -3,4 | 1    |

GAS-AmbuPsy-Punkte: Ergebnis der ambulant (3 Monate nach Therapiebeginn) durchgeführten *Global Assessment Scale*; DIFGAS: Differenz der GAS-Werte (Tag 3 versus 3 Monate); PERCENTH: 1 minus HDRS Tag 21/HDRS Tag 3; es gibt keine gültigen Fälle für GAS-AmbuPsy-Points, DIFGAS und für PERCENTH; die Statistiken können nicht berechnet werden

### 3.8 Auswertung der Katamnese; Unerwünschte Nebenwirkungen und Häufigkeit der Rehospitalisation in Abhängigkeit der CYP2D6-Allel-Aktivität

Für die Katamneseauswertung in Abhängigkeit vom CYP2C19-Genotyp gab es keine ausreichenden Daten. Aufgrund des geringen Rücklaufs der Erhebungbögen konnten die Ergebnisse nur für die CYP2D6-Gruppe, die zahlenmäßig den größeren Anteil darstellte, ausgewertet werden. Dabei lagen von 167 Patienten 55 Katamnesen vor. Sie beinhalteten Fragen nach einer erneuten stationären Behandlung (Rehospitalisierung) innerhalb der letzten drei Monate und nach der Dauer der Krankschreibung bzw. Wiedererlangung der Arbeitsfähigkeit. Zudem

wurden Angaben dokumentiert zu schweren Arzneimittelnebenwirkungen (JA/Nein) und wenn ja, nach der Art dieser seit der Entlassung aus der Klinik gefragt. Ebenso wurde die aktuelle Medikation dokumentiert.

### 3.8.1 Rehospitalisation in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

Die Auswertung der Rehospitalisierungsrate (Tab. 52) ergab, dass von 55 Patienten nur insgesamt 8 erneut stationär behandelt werden mussten. Die Rehospitalisierungsrate lag dabei in jeder CYP2D6-Gruppe etwa zwischen 10-25%. Aus den Ergebnissen ließ sich kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der CYP2D6-Allele und der Rehospitalisierungsquote erkennen.

Tabelle 52: Rehospitalisation in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

| Rehospitalisation    |        | Gesamt                  |    | Nein | Ja   |
|----------------------|--------|-------------------------|----|------|------|
| aktive CYP2D6-Allele | 0      | Anzahl                  | 4  | 3    | 1    |
|                      |        | % von Rehospitalisation |    | 75%  | 25%  |
|                      | 1      | Anzahl                  | 18 | 14   | 4    |
|                      |        | % von Rehospitalisation |    | 78%  | 22%  |
|                      | 2      | Anzahl                  | 27 | 25   | 2    |
|                      |        | % von Rehospitalisation |    | 93%  | 7,4% |
|                      | 3      | Anzahl                  | 6  | 5    | 1    |
|                      |        | % von Rehospitalisation |    | 83%  | 17%  |
|                      | Gesamt |                         | 55 | 47   | 8    |
|                      |        |                         |    | 85%  | 15%  |

Erhebung der Daten drei Monate nach stationärer Entlassung; Nein: keine erneute stationäre Einweisung; Ja: erneute stationäre Einweisung

### 3.8.2 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele; Medikamentenwechsel

Im Gegensatz zur Erfassung der UAWs mittels Fremd- und Selbstbeurteilung (*UKU Side Effect Rating Scale*) während des Krankenhausaufenthaltes erfolgte die Befragung ambulant ohne eine dafür vorgesehene UAW-Skala. Eine Differenzierung zwischen den einzelnen Nebenwirkungen konnte daher nicht vorgenommen werden. Die Frage nach schweren Arzneimittelnebenwirkungen seit der Entlassung aus der Klinik beantworteten 43 von 55 Patienten mit Nein. Von den 12 Personen, die schwere Nebenwirkungen angaben, waren 25% *Ultra-rapid-Metabolizer*, 0% *Poor-Metabolizer*, 25% *Intermediate-Metabolizer* und 50% *Extensive-Metabolizer*. 3 von 6 UM-Patienten (50%) gaben schwere Nebenwirkungen an, in der Gruppe der PMs waren es 0%, bei den IMs und EMs zwischen 15-25%. Die Ergebnisse sind der Tabelle 53 zu entnehmen.



Tabelle 53: Unerwünschte Nebenwirkungen in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele

| Unerwünschte Nebenwirkungen |        | Gesamt |        | Nein | Ja  |
|-----------------------------|--------|--------|--------|------|-----|
| aktive CYP2D6-Allele        |        | 0      |        |      |     |
|                             | Anzahl | 4      |        | 4    | 0   |
|                             | % UAWs |        |        | 100% | 0%  |
|                             | 1      | Anzahl | 18     | 15   | 3   |
|                             |        | % UAWs |        | 83%  | 17% |
|                             | 2      | Anzahl | 27     | 21   | 6   |
|                             |        | % UAWs |        | 78%  | 22% |
|                             | 3      | Anzahl | 6      | 3    | 3   |
|                             |        | % UAWs |        | 50%  | 50% |
| Gesamt                      |        |        | Anzahl | 55   | 43  |
|                             |        |        | % UAWs |      | 78% |
|                             |        |        |        |      | 22% |

Erhebung der Daten drei Monate nach stationärer Entlassung; UAWs: unerwünschte Arzneimittelwirkungen; Nein: keine UAWs; Ja: UAWs vorhanden

## 4 Diskussion

### 4.1 **Korrelation zwischen CYP2D6-Polymorphismen und dem Krankheitsbild der Depression , ihrem Verlauf und der Therapieresponse**

#### 4.1.1 **Häufigkeitsverteilung von CYP2D6 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung**

In dieser Arbeit wurden unter 200 untersuchten depressiven Patienten keine wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der detektierten CYP2D6-Allele und der Genotypen im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung gefunden. Eine Übersicht über die bisher bekannten Populationsstudien hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung von CYP2D6-Allelen befindet sich in dem Review von Bradford, 2002. Lediglich die Gruppe der UMs war im Vergleich zu anderen Populationsstudien häufiger. Ein höherer Prozentsatz der CYP2D6-*Ultrarapid-Metabolizers* von 5% (von 200 Patienten) im Vergleich zu 2,63% in der kaukasischen Bevölkerung in der Arbeit von Sachse et al., 1997, erreichte statistische Signifikanz (*Chi-Quadrat-Test*:  $p=0,04$ ). Dieser grenzwertig signifikante Unterschied war jedoch nicht mehr auszumachen nach Auswertung der Häufigkeitsverteilung der UMs unter 334 Patienten (3%).

Insgesamt wurde eine Allel-Duplikation in 3,5% (13 von 200) der Fälle detektiert im Vergleich zu 1,95 % bei Sachse et al., 1997 (Griese et al., 1998: 1,6% von 195 Personen). Da wir nur die einfache Methode der Duplikationsbestimmung nach Lovlie et. al., 1996, angewandt haben, war es nicht möglich zu unterscheiden, welches CYP2D6-Allel der Duplikation unterlag. Am häufigsten liegt das \*2-Allel dupliziert vor. In der Arbeit von Sachse et al., 1997, wurde das \*2-Allel in 1,5%, das \*4-Allel in 0,1% und das \*1-Allel in 0,5% der Fälle dupliziert gefunden. In der Arbeit von Griese et al., 1998, wurde nur das \*2-Allel dupliziert. Aufgrund dieser Ergebnisse gingen wir bei fehlender Differenzierung von der Duplikation des \*2-Allels aus. Dies schließt allerdings die Möglichkeit ein, dass der Genotyp \*2x2/\*4, in seltenen Fällen auch der Genotyp \*4x2/\*2 sein kann. Das \*4-Allel ist eine Mutation mit fehlender Enzymaktivität. Die Duplikation dieses Null-Allels verändert die Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele und hat entsprechende Auswirkungen auf die Metabolisierungskapazität (z.B. \*4/\*2x2 = 2 aktive Allele versus \*2/\*4x2 = 1 aktives Allel).

Im Bereich der *Extensive-Metabolizers* (EMs) kam der \*1/\*1-Genotyp mit 10% und das \*1-Allel mit 36,5% am häufigsten vor. Das \*2-Allel ist die insgesamt am häufigsten detektierte

Mutation (28,5% Griesse et al., 1998, 32,4% Sachse et al., 1997, und 32,9% Marez et al., 1997). Es kodiert für eine leicht verminderte Enzymaktivität mit ca. 80% der Aktivität des Wildtyps (Bradford, 2002). Homozygote oder heterozygote Kombinationen verändern nicht den Metabolisierungsstatus bzw. die Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele.

Die Häufigkeit der Detektion des \*41-Allels lag bei Gaedigk, 2003, von 203 untersuchten Personen kaukasischen Ursprungs bei 9,4%, während das \*2-Allel in 17,2% der Fälle detektiert wurde. In dieser Arbeit wurde das \*2-Allel in 23% und das \*41-Allel in 14% der Fälle gefunden. Das \*41-Allel mit der Mutation -1496C scheint nach einer Studie von Raimundo et al., 2000, eine geringere CYP2D6-Aktivität zu besitzen als das \*2-Allel. Es hat sich in der Studie von Gaedigk et al., 2003, herausgestellt, dass der PM-Status ausgeschlossen werden kann, wenn mindestens ein Allel mit der -1496G-Mutation vorhanden ist. Diese Mutation kommt wahrscheinlich sowohl bei allen \*2-Allelen als auch bei dem \*35-Allel vor. Das \*35-Allel wurde bei vielen UMs ohne Duplikationsnachweis gefunden (Lovlie et al., 2001, Gaedigk et al., 2003).

Die Gruppe der *Poor-Metabolizers* erreichte eine Frequenz von 5%, was einer Anzahl von 10 von 200 Patienten entsprach. Von der Häufigkeitsverteilung in der Arbeit von Sachse et al., 1997, mit 7,24% PMs (5-10%) unterschied sich das nicht signifikant (Tab. 34). Auch die Häufigkeit der Allele, die für die CYP2D6-Defizienz in erster Linie verantwortlich sind (\*3,\*4,\*5,\*6), entsprach mit Ausnahme von CYP2D6\*3 der Verteilung in der gesunden kaukasischen Bevölkerung. Das CYP2D6\*3-Allel wurde nur in drei Fällen detektiert (0,75%). Mit einem normalen Vorkommen von durchschnittlich 2,04% (1,31-3,02%) lag die Häufigkeit damit unter der Norm (*Chi-Quadrat-Test*:  $p=0,0325$ ). Ursächlich wird ebenfalls die deutlich geringere Fallzahl in dieser Arbeit (200 Patienten) im Vergleich zu 589 Personen in der Studie von Sachse et al., 1997, sein. Bei der Bestimmung der Häufigkeit des \*3-Allels unter 334 Patienten fand sich kein signifikanter Unterschied mehr. Fasst man die defizienten CYP2D6-Allele zu einer Gruppe mit fehlender Enzymaktivität zusammen, entsprechen 25% der Verteilung in der Normalbevölkerung (25,6% bei Sachse et al., 1997).

#### **4.1.2 Häufigkeitsverteilung von CYP2C19 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung**

Die Häufigkeitsverteilung der CYP2C19-Genotypen unter 334 untersuchten depressiven Patienten (Tab. 38) entsprach der Normalverteilung in der kaukasischen Bevölkerung (Ferguson et al., 1997, Xie et al., 1999, Bertilsson et al., 1992). Auf die Bestimmung weiterer CYP2C19-Allele wurde aufgrund des seltenen Vorkommens unter kaukasisch stämmigen Personen

verzichtet. Die drei CYP2C19-Genotypen (wt/wt = 71,26%, wt/m = 26,25% und m/m = 2,1%) zeigten keine signifikante Abweichung von den Ergebnissen der Genotypisierung in der Arbeit von Xie et al., 1999 (wt/wt=73%, wt/m=26% und m/m=2,1%). Die Phänotypisierungsergebnisse bei Xie et al., 1999, zeigten eine Häufigkeit des CYP2C19-*Poor-Metabolizers* von 2,8%.

#### 4.1.3 Häufigkeitsverteilung von CYP2C9 im Vergleich zur gesunden kaukasischen Bevölkerung

Die Häufigkeitsverteilung der detektierten CYP2C9-Allele und CYP2C9-Genotypen unter 334 untersuchten depressiven Patienten (\*1/\*1 = 66,75%, \*2/\*2 = 18,26%, \*1/\*3 = 12%, \*2/\*2 = 1,5%, \*2/\*3 = 0,6% und \*3/\*3 = 0,9% (Tab. 39 und Tab. 40) unterschied sich nicht signifikant von der Verteilung in der gesunden kaukasischen Bevölkerung. Die Tabelle 54 gibt eine Übersicht über CYP2C9-Populationsstudien bezüglich des Genotyps. Der CYP2C9-Wildtyp \*1/\*1 kommt mit durchschnittlich 65% am häufigsten vor, selten sind die homozygoten Genotypen mit dem \*2 und \*3-Allel (0,9% und 0,4%). Insgesamt stimmen die Ergebnisse unserer Studie gut mit der Verteilung der Genotypen in dieser Tabelle überein.

Tabelle 54: Übersicht über CYP2C9-Populationsstudien nach Lee et al., 2002

| Ethnische Gruppe | Referenz           | *1/*1      | *1/*2      | *1/*3      | *2/*2     | *2/*3     | *3/*3    | n           |
|------------------|--------------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|----------|-------------|
| Kaukasier        | Scordo et al.      | 102        | 24         | 22         | 4         | 3         | 2        | 157         |
|                  |                    | (65,0%)    | (16,8%)    | (14,0%)    | (2,5%)    | (1,9%)    | (1,3%)   |             |
|                  | Taube et al.       | 392        | 107        | 53         | 3         | 6         | 0        | 561         |
|                  |                    | (70,05%)   | (19,0%)    | (9,5%)     | (0,5%)    | (1,0%)    | (0%)     |             |
|                  | Margaglione et al. | 88         | 62         | 28         | 0         | 2         | 0        | 180         |
|                  |                    | (48,9%)    | (34,4%)    | (15,6%)    | (0%)      | (1,2%)    | (0%)     |             |
|                  | Yasar et al.       | 287        | 80         | 50         | 2         | 8         | 3        | 430         |
|                  |                    | (66,7%)    | (18,6%)    | (11,6%)    | (0,5%)    | (1,9%)    | (0,7%)   |             |
|                  | Lee et al.         | 34         | 9          | 8          | 3         | 1         | 0        | 55          |
|                  |                    | (61,8%)    | (16,4%)    | (14,5%)    | (5,5%)    | (1,8%)    | (0%)     |             |
|                  | <b>Total %</b>     | <b>903</b> | <b>282</b> | <b>161</b> | <b>12</b> | <b>20</b> | <b>5</b> | <b>1383</b> |
|                  |                    | (65,3%)    | (20,4%)    | (11,6%)    | (0,9%)    | (1,4%)    | (0,4%)   |             |

#### 4.1.4 Bewertung der Häufigkeitsverteilung von Cytochrom-P450-Polymorphismen in dieser Arbeit im Vergleich zur Normalbevölkerung anhand anderer Studienergebnisse

Die Auswertung dieser Studie bezüglich der Prävalenz defizienter CYP2D6-Allele und des entsprechenden Genotyps stimmt mit den Ergebnissen von Topic et al., 2000, überein. Dort

wurde eine Gruppe von depressiven (n=49) und schizophrenen (n=86) Patienten auf das Vorkommen von Null-CYP2D6-Allelen (\*3,\*4,\*5,\*6,\*7 und \*8) untersucht. In der Gruppe der an Depression erkrankten Patienten wurden keine Unterschiede im Vergleich zur gesunden Bevölkerung nachgewiesen, weder in der Häufigkeit der CYP2D6-Allele und des Genotyps noch in der Prävalenz des Phänotyps. Im Gegensatz dazu wurde ein höherer Anteil an *Poor-Metabolizern* in der Gruppe der Schizophreniepatienten gefunden mit einem signifikant höheren Risiko, unerwünschte Nebenwirkungen unter der Therapie mit CYP2D6-Substraten zu entwickeln.

In der Arbeit von Kawanishi et al, 2003, wurden 81 therapieresistente depressive Patienten, die mit CYP2D6-Substraten behandelt wurden, genotypisiert und auf einen Zusammenhang zwischen Therapieresistenz und *Ultrarapid-Metabolizer*-Status hin untersucht. Die Frequenz der Genduplikationen lag mit 9,9% signifikant höher als die bisher beobachtete Inzidenz von 0,8-1,0% unter gesunden nordischen Kaukasiern. Ältere „*case-reports*“ zeigten ähnliche Ergebnisse (Baumann et al., 1998, Dahl and Bertilsson, 1993). Die Inzidenz der CYP2D6-Duplikation bei nicht therapierefraktären depressiven Patienten wurde in der Arbeit von Kawanishi et al., 2003, nicht untersucht. Es wurden auch bisher noch keine Langzeitstudien zur Assoziation zwischen CYP2D6 und therapierefraktärer und/oder nicht refraktärer Depression veröffentlicht.

Die Studie von Aitchison et al., 1999, untersuchte den möglichen Zusammenhang zwischen therapieresistenter Schizophrenie und CYP2D6-Genduplikation. Die Häufigkeit der Duplikation war im Vergleich zur gesunden Bevölkerung nicht erhöht. Es fehlte jedoch eine Differenzierung bezüglich der Behandlung mit über P450-Cytochrom-Enzymen verstoffwechselten Medikamenten.

In der vorliegenden Arbeit wurde ohne Selektion die Anzahl der CYP2D6-Allele bei behandlungsbedürftigen depressiven Patienten bestimmt. Auf die Ergebnisse im Therapieverlauf in Abhängigkeit von der CYP2D6-Metabolisierungskapazität (unter Berücksichtigung der ausgewählten Medikation) wird zu einem späteren Zeitpunkt eingegangen.

#### **4.1.5 Schwere der Depression in Abhängigkeit von der Anzahl der CYP2D6-Allele und dem CYP2C19-Genotyp**

Zu Beginn der Studie wurde die Schwere der Depression mit Hilfe der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) quantifiziert und die durch die Krankheit bedingte Beeinträchtigung des Patienten mit der *Clinical Global Impression* (CGI) und der *Global Assessment Scale* (GAS) dokumentiert. Die Auswertung (Tab. 42 und 43) in Abhängigkeit von der Anzahl der CYP2D6-Allele bzw. dem CYP2C19-Genotyp erfolgte unter der Annahme, der Genotyp könne

Auswirkungen auf das klinische Bild einer Depression haben. Diese könnten sich beziehen auf

- - die Schwere der Depression aufgrund eines verminderten Ansprechens auf vorhergegangene medikamentöse Therapie der *Ultrarapid-Metabolizer*-Gruppe mit durchschnittlich höheren Summenscores in der HDRS,
- - die Beeinträchtigung des Wohlbefindens und der allgemeinen Funktionsfähigkeit in der *Poor-Metabolizer*-Gruppe bedingt durch unerwünschte Medikamentenwirkungen unter vorausgegangener Therapie. Entweder wurde für die PM-Gruppe entsprechend ein gutes Abschneiden in der HDRS (-> depressive Symptomatik erfolgreich behandelt) erwartet oder ein schlechtes Abschneiden in der GAS und CGI (-> UAWs führten zu Behandlungsbedürftigkeit).

Die Auswirkungen auf das klinische Bild einer Depression könnten auch auftreten

- -in Form einer Prädisposition (Krankheitssuszeptibilität) für die depressive Erkrankung, die mit einer bestimmten genetischen Variante im CYP2D6- und/oder CYP2C19-Stoffwechsel einhergeht.

Diese Studie ergab keine Korrelation zwischen der Schwere der Depression und der Anzahl der CYP2D6-Allele bzw. dem CYP2C19-Genotyp, weshalb die oben aufgeführten Hypothesen nicht bestätigt werden konnten. Zu den möglicherweise die Qualität der Ergebnisse beeinträchtigenden Faktoren gehört die relativ geringe Patientenanzahl mit drei aktiven CYP2D6-Allelen (9 von 233) und mit dem CYP2C19 \*2/\*2-Genotyp (3 von 233).

#### **4.1.6 Schwere der Depression in Abhängigkeit vom Geschlecht**

Die Vergleiche zwischen der Schwere der Depression und dem Geschlecht haben ergeben, dass die Schwere der Krankheit (HDRS, CGI) und die Beeinträchtigung des Patienten (GAS, CGI) sich nicht zwischen den Geschlechtern unterscheiden. In allen Gruppen ergaben sich vergleichbare Mittelwerte. Studien zur Untersuchung der Lebenszeitprävalenz depressiver Erkrankungen (Wittchen et al., 1993, Angst et al., 1997, Weissmann et al., 1993) haben gezeigt, dass Frauen doppelt so häufig an Depression erkranken. Es werden Raten von 20-25% bei Frauen versus 7-12% bei Männern angegeben. Für dysthyme und bipolare Störungen wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Geschlechts gefunden (Wittchen et al., 2000, Ergebnisse aus dem bundesweiten Gesundheitssurvey „Psychische Erkrankungen“). Zu der Schwere der Depression in Abhängigkeit vom Geschlecht sind aus den bisher durchgeführten Studien keine einheitlichen Ergebnisse zu entnehmen (Review von Scheibe et al., 2003). In der Studie von Perugi et al., 1990, zeigte sich bei Frauen eine tendenziell schwerere

depressive Symptomatik bei Selbsteinschätzung. Ähnliche Ergebnisse zeigten Frank et al., 1988, und Kornstein et al., 2000a, in ihren Studien. Bei der Selbstbeurteilung mit Hilfe des *Beckschen Depressions Inventar* schätzten sich Frauen depressiver als Männer ein. Dieser Unterschied war bei Anwendung der *Hamilton Depression Rating Scale* (Fremdbeurteilung) zur Diagnose der Depression und Beurteilung ihrer Schwere nicht vorhanden. In dieser Arbeit wurde ebenfalls kein Unterschied zwischen den Geschlechtern in der Fremdbeurteilung (HDRS) gefunden. Eine Selbstbeurteilung wurde nicht durchgeführt. Andere Studien haben keine Korrelation zwischen Schwere der Depression und Geschlechtszugehörigkeit festgestellt.

#### **4.1.7 CYP2D6-Genotyp und Therapieresponse**

##### **4.1.7.1 Bewertung der Studienergebnisse und Vergleich zu anderen Studien**

Die Auswertung hat gezeigt, dass keine signifikanten Unterschiede in der Therapieresponse in Abhängigkeit von den CYP2D6-Gruppen mit 0, 1, 2 oder mehr aktiven Allelen nach drei Wochen (HDRS) erkennbar waren. Obwohl 3 Wochen im Vergleich zu anderen Studien eine relativ kurze Zeit zur Messung der Therapieresponse sind, entspricht eine Rate von ca. 30% Non-Respondern dessen, was man auch nach 4-6 Wochen misst (Bauer et al., 2002). Der tendenziell größere prozentuale Abfall in den HDRS-Werten nach drei Wochen im Vergleich zu Beginn der Studie in der UM-Gruppe erreichte keine statistische Signifikanz. Die Tendenz einer besseren Therapieresponse der *Ultrarapid-Metabolizers* zu diesem Zeitpunkt korrelierte nicht mit der Hypothese eines geringeren therapeutischen Ansprechens durch schnelleren Abbau des Antidepressivums und konsekutiv unzureichender Plasmakonzentration. Von den 118 gültigen Fällen besaßen 9 Personen mehr als zwei aktive CYP2D6-Allele. Die relativ geringe Fallzahl könnte ein Grund für eine fehlende Korrelation zwischen UM-Metabolisierungstyp und Therapieresponse sein. Die *Hamilton Depression Rating Scale* zur Beurteilung der Therapieresponse ist weltweit das meist verbreitete Fremdbeurteilungsverfahren zur Einschätzung des Schweregrades einer diagnostizierten depressiven Störung. Die Schwere eines Symptoms wird dabei in der Regel unabhängig von geringen und flüchtigen Fluktuationen eingestuft. Möglicherweise war der Beobachtungszeitraum von drei Wochen zu kurz gewählt, um eine ausreichende Sensitivität hinsichtlich symptomatischer Verbesserungen oder Verschlechterungen zu erhalten. Dafür spricht die Auswertung der Langzeitresponse (drei Monate nach Therapiebeginn), die schwach signifikant eine schlechtere Therapieresponse (HDRS) für die UM-Gruppe aufwies (Tab. 50).

Diesbezüglich ergab die Studie von Kawanishi et al., 2003, eine Überrepräsentation der *Ultra-rapid-Metabolizer* unter 81 therapieresistenten Patienten, was auf eine Therapieresistenz bei diesem Genotyp hindeutet und zu den Ergebnissen unserer Studie passt.

Ein Vergleich der Therpiresponse und der Inzidenz von Nebenwirkungen unter trizyklischer Antidepressiva-Therapie zwischen Patienten, die mit Hilfe des therapeutischen *Drug-Monitorings* (TDM) behandelt wurden und einer Kontrollgruppe ohne TDM (Müller et al., 2003), zeigte vergleichbare Ergebnisse: Eine adäquate Dosierung in der TDM-Gruppe war signifikant häufiger und führte zu einer höheren Rate von therapeutischen Serumkonzentrationen (55% versus 44%,  $p = < 0,05$ ). Ein direkter Effekt des TDM auf die Behandlungseffektivität konnte nicht gefunden werden. Beide Gruppen hatten einen vergleichbaren HDRS-Wert zum Endpunkt der Studie nach 21+/-8 Tagen. Eine positive Assoziation stellte sich heraus zwischen einer im therapeutischen Bereich liegenden Serumkonzentration in der Woche 1-3 und einer größeren Differenz („Besserung“) der HDRS- und CGI-Scores zwischen Beginn und Ende der Studie.

In einer neueren Studie von Grasmäder et al., 2004, wurden 136 mit Antidepressiva (Amitriptylin, SSRIs, Mirtazapin und Venlafaxin) behandelte depressive Patienten genotypisiert und der Einfluss des 2D6-, 2C19- und 2C9-Genotyps auf die Plasmakonzentration der ADs, die Therapieresponse und die Nebenwirkungsrate untersucht. Hinsichtlich der Wirksamkeit des ADs in Abhängigkeit von der Plasmakonzentration ergab sich keine Korrelation.

Die Studie von Charlier et al., 2003, ergab eine positive Korrelation zwischen der Plasmakonzentration von Paroxetin und Fluoxetin und dem CYP2D6-Genotyp. Obwohl in früheren Studien kein klarer Zusammenhang zwischen der antidepressiven Wirksamkeit und der Plasmakonzentration der SSRIs gefunden wurde, könnte die Genotypisierung als Ergänzung zum therapeutischen *Drug-Monitoring* zur Erklärung von therapeutischem Versagen, Medikamentennebenwirkungen oder zur individuellen Dosisanpassung genutzt werden (Charlier et al., 2003).

In den letzten Jahren konnten in einigen Studien ein Zusammenhang zwischen Therapieresponse und Polymorphismen auf der Ebene der Pharmakodynamik hergestellt werden, v.a. im Bereich von Neurotransmitterrezeptoren, Transportern und anderen Medikamentenzielstrukturen (Evans, 2003). Eine systematische Metaanalyse aller pharmakogenetischer Daten zur Response von Antidepressiva und Antipsychotika ergab, dass die bisherigen Daten zu genetischen Varianten in Zielstrukturen der Antidepressiva-Wirkung, wie den Serotonin-, Noradrenalin- und Dopamintransportern und -rezeptoren, noch keine valide Prädiktion der Therapieresponse ermöglichen.



#### 4.1.7.2 Korrelation zwischen der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele und der Langzeitresponse

Zur Untersuchung der Langzeitresponse drei Monate nach Therapiebeginn wurden die Werte der *Hamilton Depression Rating Scale* und der *Global Assessment Scale* mit den Werten zu Beginn der Studie verglichen und ausgewertet. Im Gegensatz zu dem höheren HDRS-Abfall (n.s.) in der Gruppe der UMs nach 21 Tagen zeigte die Auswertung der Langzeitresponse unter der Annahme einer einseitigen Trendrichtung (s. Kapitel 3.7.2) ein signifikant schlechteres Abschneiden der *Ultrarapid-Metabolizers* im Vergleich zu den anderen Metabolisierungsgruppen, was unsere oben aufgestellte Hypothese bestätigte. Zweifel an der Validität der Ergebnisse sind insofern gerechtfertigt, als durch den geringen Rücklauf der Katamnesebögen nur 34 Patientendaten ausgewertet werden konnten. Darunter befanden sich drei Personen, die zu den *Ultrarapid-Metabolizern* zählten. Weiterhin auffällig war das Ergebnis der GAS-Auswertung (*Global Assessment Scale*). Ohne statistische Signifikanz zu erreichen, zeigten Patienten mit mehr als zwei aktiven Allelen höhere ambulante GAS-Werte als die anderen Gruppen (Tab. 49). Die *Global Assessment Scale* (Endicott et al., 1976) ist eine *Rating Scale* zur Evaluation des allgemeinen Funktionsniveaus während einer definierten Zeitspanne auf einem Kontinuum zwischen psychologischer und psychiatrischer Gesundheit und Krankheit. Während bei der HDRS der Schwerpunkt auf der Messung der depressiven Symptome (Schweregrad) liegt, beurteilt die GAS eher das Ausmaß der Erkrankung, indem sie Veränderungen der Funktionsfähigkeit in Alltagssituationen und des allgemeinen Befindens dokumentiert. Auf unsere Ergebnisse bezogen hieße das: Die *Ultrarapid-Metabolizers* profitierten zwar nicht in dem Ausmaß wie die EMs, IMs und PMs von der antidepressiven Therapie, es ging ihnen aber in ihrem allgemeinen Befinden laut der *Global Assessment Scale* besser. Aufgrund der geringen Fallzahl kann dieses Ergebnis nicht als repräsentativ für die Allgemeinheit gewertet werden. Es bleibt daher abzuwarten, ob eine erneute Auswertung unter Einbeziehung von mehr Patientendaten oder vergleichbaren Studien diese Ergebnisse bestätigen können oder nicht. Neben Studien, die sich mit pharmakodynamischen Einflussfaktoren auf die Therapiresponse befassten, zeigten Untersuchungen zur antidepressiven Langzeitwirkung, dass die neuronale Atrophie in Hirnregionen wie dem präfrontalen Kortex und der Hippocampusregion, die man bei Depression beobachtet, durch unterschiedliche Therapieverfahren, wie Elektrokrampftherapie, antidepressive Medikation oder die Therapie mit Phasenprophylaktika, gleichermaßen im Sinne einer Nervenzellregeneration beeinflusst wird (Manji et al., 2003).

#### 4.1.8 Zusammenhang zwischen Nebenwirkungsrate und Anzahl der CYP2D6-Allele

Weder die Auswertung der *UKU Side Effect Rating Scale* (Kap. 3.6), die während der stationären Behandlung durchgeführt wurde, noch die Katamneseergebnisse (Kap.3.8.2) ergaben einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele und der Häufigkeit unerwünschter Arzneimittelwirkungen. Allerdings waren unter den 12 von 55 Patienten, die in der Katamneseauswertung über schwere Nebenwirkungen klagten, 25% *Ultrarapid-Metabolizer*.

Laut der Arbeitsgruppe „Arzneimittel-Überwachung in der Psychiatrie“ (Grohmann et al., 1994) wurden unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen bei 52% der mit Antidepressiva behandelten Patienten erfasst; bei 21,5% hatten diese therapeutische Konsequenzen und führten bei knapp 8% der Patienten zum Absetzen der Medikamente. Als „bedrohlich“ wurden UAWs von knapp 2% der Patienten beschrieben.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen gibt es durchaus Hinweise auf eine Korrelation zwischen genetisch determinierter Cytochrom P450-Aktivität und Antidepressiva-Toxizität. Es herrscht weitgehend Einigkeit darüber, dass in der klassischen Antidepressiva-Therapie die Bestimmung des CYP2D6-Metabolisierungsstatus hilfreich zur Vorhersage und Vermeidung unerwünschter Nebenwirkungen oder eines verminderten therapeutischen Ansprechens sein könnte (Wedlund et al., 2004). Viele „*case-reports*“ und eine Reihe weiterer Veröffentlichungen unterstützen diese Hypothese (Bertilsson et al., 1981, Swanson et al., 1997, Sallee et al., 2000, Bertilsson et al., 2002, Marchioni et al., 1996, Lessard et al., 1999, Perucca et al., 1997). Aber nur wenige klinische Studien existieren (de Leon et al., 1998, Vandel et al., 1999, Chou et al., 2000, Chen et al., 1996), die einen generelleren Zusammenhang zwischen CYP2D6 und der Häufigkeit unerwünschter Arzneimittelwirkungen untersucht haben (Roberts et al., 2004). Zudem enthalten sie widersprüchliche Ergebnisse oder sind aufgrund kleiner Fallzahlen nur von geringer statistischer Aussagekraft. Zu berücksichtigen ist, dass in diesen „*case-reports*“ nur jeweils ein CYP2D6-Substrat untersucht wurde, während wir in unserer Studie alle CYP2D6-Substrate berücksichtigt haben. Einzelne Metabolite, die über CYP2D6 gebildet werden, könnten dabei durchaus zu Nebenwirkungen geführt haben.

Mit der Fragestellung, inwiefern genetische Varianten im Arzneistoffmetabolismus in der klinischen Praxis neben vielen anderen Faktoren einen noch sichtbaren Einfluß auf die Medikamentenwirksamkeit und die Nebenwirkungsrate haben, untersuchte Rau et al., 2004, in einer retrospektiv angelegten beobachtenden („*cross-sectional*“) Querschnittsstudie ca. 200 Patienten. Die Befragung beinhaltete Art und Dauer der Medikation, Nebenwirkungen, Wechsel oder Absetzen der Medikation. Die im Nachhinein durchgeführte Genotypisierung ergab, dass

von 28 Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen 29% keine aktiven CYP2D6-Allele besaßen (PMs), was einem vierfach höheren Wert (7%) im Vergleich zur deutschen Normalbevölkerung entsprach. Die antidepressive Therapie wurde dabei in 78% der Fälle unterbrochen. Unter den Patienten, die nur ungenügend auf die medikamentöse Therapie ansprachen, wurde in 4 Fällen (25%) eine Genduplikation festgestellt (im Vergleich zu durchschnittlich 1,8% in der Normalbevölkerung).

Die Studie von Grzesiak et al., 2003 kam zu einem ähnlichen Ergebnis. Von 89 depressiven Patienten, die mit CYP2D6-abhängigen ADs behandelt wurden, gaben 42 Patienten (47,2%) schwere Nebenwirkungen an. Davon besaß ein höherer Prozentanteil nur ein oder kein aktives CYP2D6-Allel.

In der Studie von Roberts et al., 2004, wurde kein Unterschied in der Häufigkeit von UAWs zwischen dem EM- und PM-CYP2D6-Genotyp unter Behandlung von Nortriptylin und Fluoxetin festgestellt. Unterschiede ergaben sich aber in der Art der UAWs entsprechend des Nebenwirkungsprofils von Nortriptylin und Fluoxetin. Die *Power* der Studie war bei 115 EMs und nur 10 PMs relativ gering.

Auch die Arbeit von de Vries et al., 2001, zeigte keinen Unterschied in der Genotypverteilung im Vergleich zur Normalbevölkerung nach Untersuchung von 39 „Therapieversagern“ aufgrund von UAWs.

Keine Unterschiede in der CYP2D6-Genotypverteilung und der Nebenwirkungsrate unter Mirtazapin- und Paroxetingabe zwischen den beiden Metabolisierungsgruppen (PM/IM versus EM/UM) zeigte die 8 Wochen, doppelt geblindete, randomisierte Studie von Murphy et al., 2003. Interessanterweise ergab die Auswertung, dass die genetische Variante im Serotonin-Rezeptor (*5HTR2A T/C->C/C*) eher mit einem frühzeitigem Abbrechen der Therapie und schwereren Nebenwirkungen unter Paroxetingabe assoziiert war.

## 5 Zusammenfassung

Die genetischen Polymorphismen des Cytochrom-P450-Enzymsystems spielen für den Abbau vieler Antidepressiva eine entscheidende Rolle. Bei prädisponierten Patienten können sie leicht zu gravierenden Arzneimittelnebenwirkungen oder zu einem unzureichenden Ansprechen auf die antidepressive Therapie führen.

Zielsetzung dieser Arbeit war zu untersuchen, ob Unterschiede in der Pharmakokinetik von Antidepressiva, wie sie durch Cytochrom-P450-Enzympolymorphismen verursacht werden, auch unter klinischen Bedingungen Auswirkungen auf den Erfolg der antidepressiven Therapie, die Nebenwirkungen und den Verlauf der depressiven Erkrankung haben.

Dabei stellte sich heraus,

- dass die durchgeführten genetischen Analysen keine Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der CYP2D6-, CYP2C9- und CYP2C19-Polymorphismen in der untersuchten Studienpopulation, d.h. unter an Depression erkrankten Patienten in stationärer Behandlung, im Vergleich zur mitteleuropäischen Normalbevölkerung aufzeigten,
- dass die Anzahl der aktiven CYP2D6-Allele nicht mit der Schwere der Depression korrelierte,
- dass die Untersuchung der Art und Häufigkeit der unerwünschten Arzneimittelwirkungen keine Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp zeigte und
- dass ein Einfluss der CYP2D6-Metabolisierungskapazität sich lediglich in der sich abzeichnenden schlechteren Langzeittherapieresponse der CYP2D6-*Ultrarapid-Metabolizer* in der *Hamilton Depression Rating Scale* auszumachen war, was Anlass zu weitergehenden Untersuchungen gibt.

Während der Einfluss der CYP2D6-Genotypen auf die Pharmakokinetik eindeutig nachgewiesen ist, konnten die Ergebnisse dieser Arbeit weitestgehend keinen Zusammenhang zwischen der Schwere der Depression, der Therapieresponse, der Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen und dem CYP2D6-Genotyp herstellen.

Die Studie hat mit einer Fallzahl von 334 Patienten, die mit CYP2D6-Substraten behandelt wurden, eine große *Power* und kann als repräsentativ angesehen werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- Acta Psychiatrica Scandinavia, 1987 The UKU side effect rating scale: A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand.* 1987, 334 *Suppl.* , S.1-100,
- Agúndez et al., 1995 Agundez JAG, Ledesman MC, Ladero JM; Benitez J: Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in white population. *Clin Pharmacol Ther.* 1995, 57, S.265-269,
- Aitchison et al., 1999 Aitchison KJ, Munro J, Wright P, Smith S, Makoff AJ, Sachse C, Sham PC, Murray RM, Collier DA, Kerwin RW: Failure to respond to treatment with typical antipsychotics is not associated with CYP2D6 ultrarapid hydroxylation. *Br J Clin Pharmacol.* 1999, 48(3), S.388-394,
- Aklillu et al., 1996 Aklillu E, Bertilsson L, Johanson I, Rodrigues F, Ingelman-Sundberg M: Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996, 278, S.441-446,
- Alvan et al., 1990 Alvan G, Bechtel P, Iselius L, Gundert-Remy U: Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European population. *Eur J Clin Pharmacol.* 1990, 39, S.533-537,
- Angst, 1980 Angst J: Verlauf unipolar depressiver, bipolar manisch-depressiver und schizo-affektiver Erkrankungen und Psychosen: Ergebnisse einer prospektiven Studie. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 1980, 48, S.3-30,
- APA Task Force on the Use of Laboratory Tests in Psychiatry, 1985 Tricyclic antidepressants-blood level measurement and clinical outcome: an APA Task Force report. *Am J Psychiatry.* 1985, 142, S.155-162,
- Arranz et al., 2001 Arranz MJ, Munro J, Osborne S, Collier D, Kerwin RW: Application of pharmacogenetics in psychiatry: Personalisation of treatment. *Exp Opin Pharmacother.* 2001, 2(4), S.537-542,
- Aynacioglu et al., 1999 Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Muradiye N, Schröder T, Kayaalp OS, Roots I, Brockmöller J: Low frequencies of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in a Turkish population. *Clin Psychopharmacol.* 1999, 66, S.185-192,
- Bauer et al., 2002 Bauer M, Whybrow PC, Angst J, Versiani M, Möller HJ: World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP), Guidelines for Biological Treatment of Unipolar Depressive Disorders, Part 1: Acute and continuation treatment of major depressive disorders. *World J Biol Psychiatry.* 2002, 3, S.5-43,
- Baumann et al., 1986 Baumann P, Jonzier Perey M, Koeb L, Küpfer A, Tinguely D, Schopf J: Amitriptyline pharmacokinetics and clinical response: Metabolic polymorphism assessed by hydroxylation of debrisoquine and mephenytoin. *Int Clin Psychopharmacol.* 1986, 1, S.102-112,
- Baumann et al., 1998 Baumann P, Broly F, Kosel M, Eap CP: Ultrarapid metabolism of clomipramine in a therapy resistant depressive patient, as confirmed by CYP2D6 genotyping. *Pharmacopsychiatry.* 1998, 31(2), S.72,
- Bergmann et al., 2001 Bergmann Tk, Bathum L, Brosen K: Duplication of CYP2D6 predicts high clearance of

- desipramine but high clearance does not predict duplication of CYP2D6. *J Clin Pharmacol*. 2001, 57, S.123-127,
- Bertilsson et al., 1981 Bertilsson L, Mellstrom B, Sjöqvist F, Martenson B, Asberg M: Slow hydroxylation of nortriptyline and concomitant poor debrisoquine hydroxylation: Clinical implications. *Lancet*. 1981, 1 (8219), S.560-561,
- Bertilsson et al., 1992 Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, Liao XM, Wang KY, Reviriego J, Iselius L, Sjöqvist F: Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquine and S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther*. 1992, 51, S.388-397,
- Bertilsson, 1995 Bertilsson L: Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. *Clin Pharmacokinet*. 1995, 29, S.192-209
- Bertilsson et al., 1997 Bertilsson L, Dahl ML, Tybring G: Pharmacogenetics of antidepressants: Clinical aspects. *Acta Psychiatr Scand*. 1997, 96(Suppl 391), S.14-21,
- Bertilsson et al., 2002 Bertilsson L, Dahl MJ, Dalen P, Al-Shurbaji A: Molecular genetics of CYP2D6: Clinical focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol*. 2002, 53, S.111-122,
- Bertz und Grannemann, 1997 Bertz RJ and Grannemann GR: Use of in vitro data and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet*. 1997, 32, S.210-258,
- Bhasker et al., 1997 Bhasker CR, Miners JO, Coulter S, Birkett DJ: Allelic and functional variability of cytochrome P4502C9. *Pharmacogenetics*. 1997, 7, S.51-58,
- Bird und Schwalbe, 1965 Bird ED and Schwalbe jr. FC: Prolonged hypoglycemia secondary to tolbutamide. *Ann Intern Med*. 1965, 62, S.110-112,
- Bradford, 2002 Bradford LD: CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*. 3, S.229-243,
- Brockmöller et al., 2000 Brockmöller J, Kirchheiner J, Meisel CH, Roots I: Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. *Pharmacogenomics*. 2000, 2, S.125-151,
- Charlier et al., 2003 Charlier C, Broly F, Lhermitte M, Pinto E, Ansseau M, Plomteux G: Polymorphism in the CYP2D6 Gene: Association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2003, 25 (6), S.738-742,
- Chen et al., 1996 Chen S, Chou WH, Blouin RA, Mao Z, Humphries LL, Craig Meek Q, Neill JR, Martin WL, Hays LR, Wedlund PJ: The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) enzyme polymorphism: Screening costs and influence on clinical outcome in psychiatry. *Clin Pharmacol Ther*. 1996, 60, S.522-534,
- Chiba K und Kobayashi K, 2000 Chiba K und Kobayashi K: Antidepressants. Hrsg.: Levy R et al. (eds): *Metabolic drug interactions*. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, S.233-243,
- Chou et al, 2000 Chou WH, Yan FX, De Leon J, Barnhill J, Rogers T, Cronin M, Pho M, Xiao V, Ryder TB, Liu WW, Teiling C, Wedlund PJ: Extension of a pilot study: Impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. *J Clin Pharmacol* . 2000,

20, S.246-251,

- Crespi und Miller, 1997 Crespi CL and Miller VP: The R144C change in the CYP2C9\*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics*. 1997, 7, S.203-210,
- Dahl and Bertilsson, 1993 Dahl ML, Bertilsson L: Genetically variable metabolism of antidepressants and neuroleptic drugs in man. *Pharmacogenetics*. 1993, 3 (2), S.61-70,
- Dahl et al., 1994 Dahl ML, Tybring G, Elwin CE et al., : Stereoselective disposition of mianserin is related to debrisoquine hydroxylation polymorphism. *Clin Pharmacol Ther*. 1994, 56, S.176-183,
- Dahl et al., 1995 Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F: Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995, 274, S.516-520,
- Dalén et al., 1998 Dalén P, Dahl ML, Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L: 10-Hydroxylation of nortryptilene in white persons 0, 1 and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther*. 1998, 63(4), S.444-452,
- Daly et al., 1996a Daly AK, Brockmöller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans WE, Gonzalez FJ, Huang JD, Idle JR, Ingelman-Sundberg M, Ishizaki T, Jacqz-Aigrain E, Meyer UA, Nebert DW, Steen VM, Wolf CR, Zanger UM: Nomenclature for human CYP2D6 alleles. *Pharmacogenetics*. 1996a, 6, S.193-201,
- Dartnell et al., 1996 Dartnell JG, Anderson PP, Chohan V et al.: Hospitalisation for adverse events related to drug-therapy: Incidence, avoidability and costs. *Med J Aust*. 1996, 164, S.695-662,
- De Leon et al., 1998 De Leon J, Barhill J, Rogers T, Boyle J, Chou WH, Wedlund PJ: Pilot Study of the Cytochrome P450-2D6 Genotype in a Psychiatric State Hospital. *Am J Psychiatry*. 1998, 155, S.1278-1280,
- De Morais et al., 1994 De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA: The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 1994, 269, S.15419-15422,
- De Morais et al., 1994b De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA: Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol*. 1994b, 46, S.594-598,
- De Vries et al., 2001 De Vries EM, Pot HJ, Conemans JMH et al.: The clinical relevance of routine genotyping of CYP2D6/2C19 null alleles of psychiatric patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2001, 53, S.543-559,
- De Waziers et al., 1990 De Waziers I, Cugnenc PH, Leroux JP, Beaune PH: Cytochrome P450 isoenzymes, epoxide hydroxylase and glutathione transferases in rat and human hepatic and extrahepatic tissues. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990, 253, S.387-393,
- Desta et al., 2002 Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA: Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 2002, 41, S.913-958,
- Donoghue and Hylan, 2004 Donoghue J and Hylan TR: Antidepressant use in clinical practice: Efficacy v. effectiveness. *Br J Psychiatry*. 2001, 179, S.9-17,
- Eichelbaum et al., 1979 Eichelbaum M, Spannbricker N, Steincke B, Dengler HJ: Defective N-oxidation of

- sparteine in man: A new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol.* 1979, 16, S.183-187,
- Eichelbaum et al., 1987 Eichelbaum M, Bauer MP, Dengler HJ et al.: Chromosomal assignment of human cytochrome P450 (debrisoquine / sparteine type) to chromosome 22. *Br J Clin Pharmacol.* 1987, 23, S.455-458,
- Endicott et al., 1976 Endicott J, Spitzer RL, Fleiss JL, Cohen J: The global assessment scale. A procedure for measuring overall severity of psychiatric disturbance. *Arch Gen Psychiatry.* 1976, 33 (6), S.766-771,
- Ereshefsky et al., 1988 Ereshefsky L, Tran-Johnson T, Davis CM, LeRoy A: Pharmacokinetic factors affecting antidepressant drug clearance and clinical effect: evaluation of doxepin and imipramin - new data and review. *Clin Chem.* 1988, 34(5), S.863-880,
- Evans, 2003 Evans WE: Pharmacogenomics: Marshalling the human genome to individualize drug therapy. *Gut.* 2003, *Suppl.2*, S.10-18,
- Evans und McLeod Evans WE and McLeod HL: Genetic polymorphisms influencing drug disposition. *N Engl J Med.* 2003, 348(6), S.538-549,
- Fava und Davidson Fava M and Davidson KG: Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *Psychiatr Clin North Am.* 1996, 19, S.179-200,
- Fava, 2003 Fava M: Diagnosis and definition of treatment-resistant depression. *Biological Psychiatry.* 2003, 53(8), S.649-659,
- Ferguson et al., 1998 Ferguson RJ, De Morais SM, Benhamou S, Bouchardy C, Blaisdell J, Ibeanu G, Wilkinson G, Sarich TC, Wright JM, Dayer P, Goldstein JA: A new genetic defect in human CYP2C19: Mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-Mephenytoin. *JPET.* 1998, 284, S.356-361,
- Frank et al., 1988 Frank E, Carpenter LL, Kupfer DJ : Sex differences in recurrent depression: Are there any that are significant?. *Am. J. Psychiatry.* 1988, 145, S.41-45,
- Furuta et al., 1999 Furuta T, Ohashi K, Kosuge K et al.: CYP2C19 genotype status and effect of omeprazole on intragastric pH in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1999, 65, S.552-561,
- Gaedigk et al., 2003 Gaedigk A, Ryder DL, Bradford LD, Leeder JS: CYP2D6 Poor Metabolizer Status can be ruled out by a Single Genotyping Assay for the -1584G Promotor Polymorphism. *Clin Chem.* 2003, 49, S.1008-1011,
- Ghahramani et al., 1997 Ghahramani P, Ellis SW, Lennard MS, Ramsay LE, Tucker GT: Cytochromes P450 mediating the N-demethylation of amitriptyline. *Br J Clin Pharmacol.* 1997, 43 (2), S.137-144,
- Goldstein und De Morais, 1994 Goldstein JA und De Morais SM: Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics.* 1994, 4, S.285-299,
- Gonzalez et al., 1988 Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S, Umeno M, Zanger UM, Nebert DW, Gelboin HV, Hardwick JP, Meyer UA: Characterization of the common genetic defect in human deficient in debrisoquine metabolism. *Nature.* 1988, 331, S.442-446,
- Gotoh, 1992 Gotoh O: Substrate recognition sites in cytochrome P450 family 2 (CYP2) proteins inferred from comparative analysis of amino acid and coding nucleotide sequences. *J Biol Chem.* 1992, 267, S.83-



90,

- Gram, 1977 Gram LF: Plasma level monitoring of tricyclic antidepressant therapy. Clin Pharmacokinet. 1977, 2, S.237-251,
- Grasmäder et al., 2004 Grasmäder K, Verwohlt PL, Rietschel M, Dragisevic A, Müller M, Hiemke C, Freymann N, Zobel A, Maier W, Rao ML: Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasmaconcentration and clinical effects on antidepressants in a naturalistic clinical setting. Eur J Clin Pharmacol. 2004, 28,
- Griese et al., 1997 Griese EB, Zanger UM, Brudermanns U, Gaedigk A, Mikus G, Mörike K, Stüven T, Eichelbaum M: Assessment of predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. Pharmacogenetics. 1998, 8, S.15-26,
- Grohmann et al., 1994 Grohmann R, Rüther E, Schmidt LG: Unerwünschte Wirkungen von Psychopharmaka. Ergebnisse der AMÜP-Studie. Heidelberg, Springer,
- Grzesiak et al., 2003 Grzesiak M, Beszlej A, Lebioda A, Jonkisz A, Dobosz T, Kiejna A: Retrospective assessment of the antidepressant tolerance in the group of patients with diagnosis of depression and different CYP2D6 genotype. Psychiatr Pol. 2003, 37 (3), S.433-444,
- Guidice et al., 1997 Guidice JM, Marez D, Sabbagh M, Legrand-Andreoletti M, Spire C, Alcaide E, Lafitte JJ, Broly F: Evidence for CYP2D6 expression in human lung. Biochem Biophys Res Commun. 1997, 241, S.79-85,
- Härter et al., 2004 Härter M, Sitta P, Ferdinand K, Metzger R, Wiegand W, Schell G, Stieglitz RD, Wolfersdorf M, Felsenstein M, Berger M: Externe Qualitätssicherung bei stationärer Depressionsbehandlung . Dtsch Aerztebl. 2004, 27, S.101:A 1970-1974,
- Haining et al., 1996 Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE: Allelic variants of human cytochrome P450 2C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization and prochiral selectivity of the wild-type and I359L mutant forms. Arch Biochem Biophys. 1996, 333(2), S.447-458,
- Helmchen, 1990 Helmchen H: Gestuftes Vorgehen bei Resistenz gegen Antidepressiva-Therapie. Hrsg.: Möller HJ: Therapieresistenz unter Antidepressiva-Behandlung. Berlin , Springer, S.237-250,
- Ho et al., 2001 Ho PC, SavilleDJ, Wanwimolruk S: Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. J Pharm Pharm Sci. 2001, 4, S.217-27,
- Horsmans et al., 1994 Horsmans Y, Lannes D, Pessayre D, Larrey D: Possible association between poor metabolism of mephenytoin and hepatotoxicity caused by AtriumR, a fixed combination preparation containing phenobarbital, ferbamate and diferbamate. J Hepatol. 1994, 21, S.1075-1079,
- Ingelman-Sundberg, 1999 Ingelman-Sundberg M: Duplication, multiduplication and amplification of genes encoding drug metabolizing enzymes: Evolutionary, toxicological and clinical pharmacological aspects. Drug Metabolism Reviews. 1999, 31(2), S.449-459,
- Ingelman-Sunberg, 2003 Ingelman-Sundberg M: Implication of polymorphic Cytochrom P450-dependent drug metabolism for drug development. Drug Metabolism and Disposition. 2001, 29 (4), S.570-573,

- Inoue et al., 1997 Inoue K, Yamazaki H, Imiya K, Akasaka S, Guengerich FP, Shimada T: Relationship between CYP2C9 and 2C19 genotypes and tolbutamide methylhydroxylation and S-mephenytoin 4'-hydroxylation activities in livers of Japanese and Caucasian population. *Pharmacogenetics*. 1997, 7, S.103-113,
- Jacobi et al., 2004 Jacobi F, Wittchen HU, Hölting C et al.: Prevalence, comorbidity and correlates of mental disorders in a general population: Results from the German health interview and examination survey (GHS). *Psychol Med* (in press). 2004,
- Johansson et al., 1996 Johansson I, Lundqvist E, Dahl ML, Ingelman-Sundberg M: PCR-based genotyping for duplicated and deleted CYP2D6 genes. *Pharmacogenetics*. 1996, 6, S.351-355,
- Jurima et al., 1985 Jurima M, Inaba T, Kadar T, Kalow W: Genetic polymorphism of mephenytoin p(4')hydroxylation: Difference between Orientals and Caucasians. *Br J Clin Pharmacol*. 1985, 19, S.483-487,
- Kaneko et al., 1999 Kaneko A, Bergqvist Y, Takechi M, Kalkoa M, Kaneko O, Kobayakawa T, Ishizaki T, Bjorkman A: Intrinsic efficacy of proguanil against falciparum and vivax malaria independent of the metabolite cycloguanil. *J Infect Dis*. 1999, 179, S.974-979,
- Kawanishi et al., 2003 Kawanishi C, Lundgren S, Agren H, Bertilsson L: Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders. *Eur J Clin Pharm*. 2003,
- Kessler et al., 2003 Kessler RC, Berglund P, Demler O et al.: The epidemiology of major depressive disorder: Results from the national comorbidity survey replication (NCS-R). *JAMA*. 2003, 289, S.3095-3105,
- Kidd et al., 1999 Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, Blaisdell J, Goldstein JA, Dalton JT: Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9\*3 allele. *Pharmacogenetics*. 1999, 9(1), S.71-80,
- Kimura et al., 1989 Kimura S, Kozak CA, Gonzalez FJ: Identification of a novel P450 expressed in rat lung: cDNA cloning and sequence, chromosome mapping and induction by 3-Methylcholanthrene. *Biochemistry*. 1989, 28, S.3798-3803,
- Kirchheiner et al., 2001 Kirchheiner J, Brosen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjöquist F, Spina E, Brockmöller J: CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendation for antidepressants: a first step towards subpopulation specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* . 2001, 103, S.1-21,
- Kirchheiner et al., 2002 Kirchheiner J, Meineke I, Müller G, Roots I, Brockmöller J: Contributions of CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 to the biotransformation of E- and Z-doxepin in healthy volunteers. *Pharmacogenetics*. 2002, 12, S.571-580,
- Kirchheiner et al., 2003 Kirchheiner J, Bertilsson L, Bruus H, Wolff A, Roots I, Bauer M: Individualized medicine - Implementation of pharmacogenetic diagnostic in antidepressant drug treatment of major depression. *Pharmacopsychiatry*. 2003, 36 (Suppl. 3), S.235-243,
- Kirchheiner et al., 2004 Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: The contribution of allelic variation to the phenotype of drug response. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong ML, Licinio J, Roots I, Brockmöller J: *Molecular Psychiatry*. 2004, S.1-32,

- Kirchheiner et al., 2004 Kirchheiner J, Heesch C, Bauer S, Meisel Ch, Seringer A, Goldammer M, Tzvetkov M, Meineke I, Roots I, Brockmöller J: Impact of the ultrarapid metabolizer genotype of cytochrome P450 2D6 on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther.* 2004, 76, S.302-312
- Koyama et al., 1996 Koyama E, Tanaka T, Chiba K et al., : Steady-state plasma concentrations of imipramine and desipramine relation to S-mephenytoin 4'-hydroxylation status in japanese depressive patients . *J Clin Psychopharmacol.* 1996, 16, S.286-293,
- Kornstein et al., 2000a Kornstein SG, Schatzberg AV, Thase ME, Yonkers KA, McCullen JP, Keitner GI, Gelenberg AJ, Ryan CE, Hess AL, Harrison W et al.: Gender differences in chronic major and double depression. *J. Affect. Disord.* 2000a, 60, S.1-11,
- Kreeger, 1962 Kreeger N: Tolbutamide-induced hypoglycemia. *N Engl J Med.* 1962, 266, S.818-820,
- Küpfer et al., 1984 Küpfer A, Desmond P, Patwardhan R, Schenker S, Branch RA: Mephenytoin hydroxylation deficiency: Kinetics after repeated doses. *Clin Pharmacol Ther.* 1984, 35, S.33-39,
- Küpfer et al., 1984b Küpfer A, Desmond P, Patwardhan R, Schenker S, Branch RA: Mephenytoin hydroxylation deficiency: Kinetics after repeated doses. *Clin Pharmacol Ther.* 1984b, 35, S.33-39,
- Küpfer und Preisig, 1984 Küpfer A and Preisig R: Pharmacogenetics of mephenytoin: A new drug hydroxylation polymorphism in man. *J Clin Pharmacol.* 1984, 26, S.753-759,
- Kutt et al., 1964 Kutt H, Wolk M, MC Dowell F: Insufficient parahydroxylation as a cause of diphenylhydantoin toxicity. *Neurology.* 1964, 14, S.542-548,
- Laine et al., 2001 Laine K, Tybring G, Hartter S, Andersson K, Svensson JO, Widen J, Bertilsson L: Inhibition of cytochrome P4502D6 activity with paroxetine normalizes the ultrarapid metabolizer phenotype as measured by nortryptiline pharmacokinetics and the debrisoquine test. *Clin Pharmacol Ther.* 2001, 70, S.327-35,
- Laux, 1986 Laux G: Chronifizierte Depressionen. Stuttgart, Enke,
- Lessard et al., 1999 Lessard E, Yessine M, Hamelin B, O'Hara G, Leblanc J, Turgeon J: Influence of CYP2D6 activity on the disposition of cardiovascular toxicity of the antidepressant agent venlafaxine in humans. *Pharmacogenetics.* 1999, 9, S.435-443,
- Lin et al., 1995 Lin EHB, Korff M, Katon W et al.: The role of the primary care physicians in patients adherence to antidepressant therapy. *Med Care.* 1995, 33, S.67-74,
- Linden, 1997 Linden M: Therapieresistenz und Patienten-Non-Compliance bei depressiven Störungen. Hrsg.: Bauer M, Berghöfer A: Therapieresistente Depressionen. Berlin, Springer, 1997 S.47-56,
- Lindpaintner, 2003 Lindpaintner K: Pharmacogenetics and the future of medical practice. *J Mol Med.* 2003, 81, S.141-153,
- Lovlie et al., 1996 Lovlie R, Daly AK, Molven A, Idle JR, Steen VM: Ultrarapid metabolizers of debrisoquine: Characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene. *FEBS Letters.* 1996, 392, S.30-34,
- Lovlie et al., 2001 Lovlie R, Daly AK, Matre GE, Molven A, Steen V: Polymorphisms in CYP2D6 duplication-

- negative individuals with the ultrarapidmetabolizer phenotype: A role for the CYP2D6\*35 allele in ultrarapid metabolism?. *Pharmacogenetics*. 2001, 11 (1), S.45-55,
- Mahgoub et al., 1977 Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL: Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet*. 1977, 2(8038), S.584-586,
- Malhotra et al., 2004 Malhotra AK, Murphy GM Jr, Kennedy JL: Pharmacogenetics of Psychotropic Drug Response. *Am J Psychiatry*. 2004, 161, S.780-796,
- Manji et al., 2003 Manji HK, Quiroz JA, Sporn J, Payne JL, Denicoff K, N AG, Zarate CA, Jr., Charney DS: Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry*. 2003, 53, S.707-742,
- Marchioni et al., 1996 Marchioni E, Perucca E, Soragna D, Bo P, Malaspina A, Ferrandi D, Albergati A, Savoldi F: Choreiform syndrome associated with fluoxetine treatment in a patient with deficient CYP2D6 activity. *Neurology*. 1996, 46, S.853,
- Marez et al., 1997 Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Lafitte JJ et al.: Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 in a European population: Characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics*. 1997, 7, S.193-202,
- McDonald et al., 2002 McDonald HP, Garg AX, Haynes RB: Interventions to enhance patient adherence to medication prescriptions: Scientific review. *Jama*. 2002, 288, S.2868-2879,
- McElroy et al., 2000 McElroy S, Richmond J, Lira M, Friedman D, Silber BM, Milos PM: CYP2D6 genotyping as an alternative to phenotyping for determination of metabolic status in a clinical trial setting. *AAPS Pharmsci*. 2000, 2(4), S.Art.33,
- Meier et al., 1985 Meier UT, Kronbach T, Meyer UA: Assay of mephenytoin metabolism in human liver microsomes by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*. 1985, 151, S.286-291,
- Meisel et al., 2000 Meisel CH, Roots I, Cascorbi I, Brinkmann U, Brockmöller J: How to manage individualized drug therapy: Application of pharmacogenetic knowledge of drug metabolism and transport. *Clin Chem Lab Med*. 2000, 38(9), S.869-876,
- Meyer, 1994 Meyer UA: The molecular basis of genetic polymorphism of drug metabolism. *J Pharm*. 1994, 46, S.409-415,
- Mihara et al., 1997 The CYP2D6 genotype and plasma concentration of mianserin enantiomers in relation to therapeutic response to mianserin in depressed Japanese patients. Mihara K, Otani K, Tybring G, Dahl ML, Bertilsson L, Kaneko S : *Clin Psychopharmacol*. 1997, 17, S.467-471,
- Miners und Birkett, 1998 Miners JO and Birkett DJ: Cytochrome P4502C9: An enzyme of major importance in human drug metabolism. *BR J Clin Pharm*. 1998, 45, S.525-538,
- Möller, 1997 Möller HJ: Therapieresistenz unter Antidepressiva-Therapie: Definition, Epidemiologie und Risikofaktoren. Hrsg.: Bauer M, Berghöfer A: *Therapieresistente Depressionen*. Berlin, Springer, 1997 S.3-15,
- Möller, Laux, Kampfhammer, 2002 Möller HJ, Laux G, Kampfhammer HP: *Psychiatrie und Psychotherapie*. 2.Auflage Berlin, Springer, 2002 S.1201,

- Moltke et al., 1997 Moltke LL, Greenblatt DJ, Duan SX, Schmider J, Wrights CE, Harmatz JS, Shader RI: Human cytochromes mediating N-demethylation of fluoxetine in vitro. *Psychopharmacology*. 1997, *132*(4), S.402-407,
- Moore et al., 1998 Moore N, Lecointre D, Noblet C and Mabilie M: Frequency and costs of serious adverse drug reactions in a department of general medicine. *Br J Clin Pharmacol*. 1998, *45* (3), S.301-308,
- Morinobu et al., 1997 Morinobu S, Tanaka K, Kawakatsu S et al.: Effects of genetic defects in the CYP2C19 gene on the N-demethylation of imipramine, and clinical outcome of imipramine therapy. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1997, *51*, S.253-257,
- Müller et al., 2003 Müller MJ, Dragicevic A, Fric M, Gaertner I, Grasmäder K, Härtter S, Hermann E, Kuss HJ, Laux G, Oehl W, Rao ML, Rollmann N, Weigmann H, Weber-Labonte M, Hiemke C: Therapeutic drug monitoring of tricyclic antidepressants: How does it work under clinical conditions. *Pharmacopsychiatry*. 2003, *36*, S.98-104,
- Murphy et al., 2001 Murphy GM Jr, Pollock BG, Kirshner MA, Pascoe N, Cheuk W, Mulsant BH, Reynolds CF: CYP2D6 genotyping with oligonucleotide microarrays and nortriptyline concentrations in geriatric depression. *Neuropsychopharmacology*. 2001, *25*, S.737-743,
- Murphy et al., 2003 Murphy GM, Kremer C, Rodrigues HE, Schatzberg AF: Pharmacogenetics of Antidepressant Medication Intolerance. *Am J Psychiatry*. 2003, *160*, S.1830-1835,
- Murray, 1997 Murray CJ, Lopez AD: Global mortality, disability and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997, *349*, S.1436-1442,
- Nakamura et al., 1985 Nakamura K, Goto F, Ray WA, McAllister CB, Jacqz E, Wilkinson GR, Branch RA: Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquin and mephenytoin hydroxylation between Japanese and Caucasian population. *Clin Pharmacol*. 1985, *38*, S.402-408,
- Nebert et al., 1987 Nebert DW, Jaiswal AK, Meyer UA, Gonzalez FJ: Human P450 genes: evolution, regulation, and possible role in carcinogenesis. *Biochem Soc Trans*. 1987, *15*, S.586-589,
- Nebert, 1999 Nebert DW: Pharmacogenetics and pharmacogenomics: Why is this relevant to the clinical geneticist?. *Clin Genet*. 1999, *56*, S.247-258,
- Nebert, 2000 Nebert DW: Drug-metabolizing enzymes, polymorphisms and interindividual response to environmental toxicants. *Clin Chem Lab Med*. 2000, *38*(9), S.857-861,
- Nelson, 2003 Nelson JC: Managing treatment-resistant major depression. *J Clin Psychiatry*. 2003, *64 Suppl 1*, S.5-12,
- Perry et al., 1987 Perry PJ, Pfohl MB, Holstad SG: The relationship between antidepressant response and tricyclic antidepressant plasma concentrations: A retrospective analysis of literature using logistic regression analysis. *Clin Pharmacokinet*. 1987, *13*(6), S.381-392,
- Perucca et al., 1997 Perucca E, Marchioni E, Soragna D, Savoldi F: Fluoxetine-induced movement disorders and deficient CYP2D6 enzyme activity. *Mov Disord*. 1997, *12* (4), S.624-625,
- Perugi et al., 1990 Perugi G, Musetti L, Simonini E, Piagentini F, Cassano GB, Akiskal HS, : Gender-mediated clinical features of depressive illness: The importance of temperamental differences. *Br. J.*

- Psychiatry. 1990, 157, S.835-841,
- Preskorn et al., 1993 Preskorn SH, Burke MJ, Fast GA: Therapeutic drug monitoring: Principles and practice. Psychiatr Clin North Am. 1993, 16, S.611-645,
- Rabkin und Klein, 1987 Rabkin J, Klein D: The clinical measurement of depressive disorders. Band The measurement of depression. New York: Guilford, S.30-83,
- Raimundo et al., 2000 Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griesse EU, Schwab M, Zanger UM: Elucidation of the genetic basis of the common "intermediate metabolizer" phenotype for drug oxidation by CYP2D6. Pharmacogenetics. 2000, 10 (7), S.577-581,
- Rane et al., 1996 Rane A, Liu Z, Bjelfman C, Thyr C, Ericson H, Hansson T, Hendersson C, Wolf CR: Differential effects of neuroleptic agents on hepatic cytochrome P-450 isoenzymes in the male rat. Biochem Biophys Acta. 1996, 1291, S.60-66,
- Rao et al., 1996 Rao ML, Ruhrmann S, Retey B et al.: Low plasma thyroid indices of depressed patients are attenuated by antidepressant drugs and influence treatment outcome. Pharmacopsychiatry. 1996, 29, S.180-186,
- Rao et al., 1999 Zur klinischen Relevanz von Paroxetin-Serumkonzentrationen. Rao ML, Bagli M, Papassotiropoulos A, Sobanski A, Deister A: Psychopharmakotherapie. 1999, 6, S.158-160,
- Rau et al., 2004 Rau T, Wohlleben G, Wuttke H, Thuerlauf N, Lunkenheimer J, Lanczik M, Eschenhagen T: CYP2D6 genotype: Impact on adverse effects and nonresponding during treatment with antidepressants- A pilot study. Clin Pharmacol Ther. 2004, 75 (5), S.386-393,
- Rendic and Di Carlo, 1997 Rendic S, Di Carlo FJ: Human-cytochrome P450 enzymes. A status report summarizing their reactions, substrates, inducers and inhibitors. Drug Metab Rev. 1997, 29 (1-2), S.413-580,
- Rigal et al., 1987 Rigal JG, Albin AC, Duchier AR, D'Aulnay JM, Fenelon JH, Vincon GA, Demots-Mainard FM: Imipramine blood levels and clinical outcome. J Clin Psychopharmacol. 1987, 7(4), S.222-229,
- Ring et al., 2001 Ring BJ, Eckstein JA, Gillespie JS, Binkley SN, Vandenbraden M, Wrighton SA: Identifikation of the human cytochrome P450 responsible for in vitro formation of R- and S-norfluoxetine. J Pharmacol Exp Ther. 2001, 297, S.1044-1050,
- Roberts et al., 2004 Roberts RL, Mulder RT, Joyce PR, Luty SE, Kennedy MA: No evidence of increased adverse drug reactions in cytochrome P450 CYP2D6 poor metabolizers treated with fluoxetine and nortriptyline. Hum Psychopharmacol Clin Exp. 2004, 19, S.17-23,
- Sachse et al., 1997 Sachse C, Brockmüller J, Bauer S, Roots I: Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: Allele frequencies and phenotypic consequences. Am J Human Genet. 1997, 60, S.284-295,
- Sallee et al., 2000 Sallee FR, DeVane CL, Ferrel RE: Fluoxetine-related death in a child with cytochrome P-450 2D6 genetic deficiency. J Child Adolesc Psychopharmacol. 2000, 10 (1), S.27-34,
- Scheibe et al., 2003 Scheibe S, Preuschof C, Cristi C, Bagby RM: Are there gender differences in major depression and its response to antidepressants?. Journal of affective disorders. 2003, 75, S.223-235,

- Schmitz und Drobnik, 2003 Schmitz G und Drobnik W: Genpolymorphismen und interindividuelles Risiko der Pharmakotherapie. *Klinikerzt.* 2003, 32(1), S.23-27,
- Scordo et al., 2004 Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E: Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res.* 2004, 50 (2), S.195-200,
- Seretti et al., 2002 Seretti A, Lilli R, Smeraldi E: Pharmacogenetics in affective disorders. *European Journal of Pharmacology.* 2002, 438, S.117-128,
- Setiabudy et al., 1992 Setiabudy R, Chiba K, Kusaka M, Ishizaki T: Caution in the use of a 100mg dose of racemic mephenytoin for phenotyping Southeastern Oriental Subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 1992, 33, S.665-666,
- Shimada et al., 1994 Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP: Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, 270, S.414-423,
- Sindrup et al., 1992 Sindrup SH, Brosen K, Gram LF: The relationship between paroxetine and the sparteine oxidation polymorphism. *Clin Pharmacol Ther.* 1992, 51, S.278-287,
- Skjelbo et al., 1996 Skjelbo E, Mutabingwa TK, Bygbjerg I, Nielsen KK, Gram LF: Chlorguanide metabolism in relation to the efficacy in malaria prophylaxis and the S-mephenytoin oxidation in Tanzanians. *Clin Pharmacol Ther.* 1996, 59, S.302-311,
- Sorensen, 2002 Sorensen JM: Herb-drug, food-drug, nutrient-drug and drug-drug interactions: Mechanism involved and their medical applications. *J Altern Complement Med.* 2002, 8(3), S.293-308,
- Spina et al., 1997 Spina E., Gitto C, Avenoso A, Campo GM, Caputi AP, Perucca E: Relationship between plasma desipramine levels, CYP2D6 phenotype and clinical response to desipramine: A prospective study. *Eur J Clin Pharmacol.* 1997, 51, S.395-398,
- Steen et al., 1995 Steen VM, Andreassen, OA, Daly AK, Tefre T, Borresen AL, Idle JR, Gulbrandsen AK: Detection of the poor metabolizer-associated CYP2D6(D) gene deletion allele by long-PCR technology. *Pharmacogenetics.* 1995, 5, S.215-223,
- Steimer et al., 2004 Steimer W, Zöpf K, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J, Messner B, Kissling W, Leucht S: Allele-specific change of concentration and functional gene dose for the prediction of steady-state serum concentration of amitriptyline and nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 extensive and intermediate metabolizers. *Clinical Chem.* 50(9), S.1623-1633
- Steward et al., 1997 Steward DJ, Haining RL, Henne KR, Davis G, Rushmore TH, Trager WF, Rettie AE: Genetic association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9\*3. *Pharmacogenetics.* 1997, 7(5), S.361-367,
- Stubbins et al., 1996 Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR: Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus. *Pharmacogenetics.* 1996, 6, S.429-439,
- Sullivan-Klose et al., 1995 Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminski LS, Shenfield GM, Miners JO, Birkett DJ, Goldstein JA: The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide

- polymorphism. Pharmacogenetics. 1996, 6 (4), S.341-349,
- Swanson et al., 1997 Swanson JR, Jones GR, Krasselt W, Denmark LN, Ratti F: Death of two subjects due to imipramine and desipramine metabolite accumulation during chronic therapy: A review of the literature and possible mechanisms. J Forensic Sci. 1997, 42 (2), S.335-339,
- Task Force Laboratory Tests in Psychiatry Task Force on the use of Laboratory Tests in Psychiatry: Tricyclic antidepressant-blood level measurement and clinical outcome. Am J Psychiatry. 1995, 142, S.155-162,
- Thase, 2003 Thase ME: New approaches to managing difficult-to-treat depressions. J Clin Psychiatry. 2003, 64(Suppl 1), S.3-4,
- Tyndale et al., 1991a Tyndale RF, Sunahara R, Inaba T, Kalow W, Gonzalez FJ, Niznik HB: Neuronal cytochrome P4502D1 (debrisoquine / sparteine type): Potent inhibition of activity by (-)-cocaine and nucleotide sequence identity to human hepatic P450 gene CYP2D6. Mol Pharmacol. 1991a, 40, S.63-68,
- Vandel et al., 1999 Vandel P, Haffen E, Vandel S, Bonin B, Nezelof S, Sechter D, Broly F, Bizouard P, Dalery J: Drug extrapyramidal side effects: CYP2D6 genotypes and phenotypes. Eur J Clin Pharmacol. 1999, 55 (9), S.659-665,
- Veronese et al., 1993 Veronese ME, Doecke CJ, Mackenzie PI, McManus ME, Miners JO, Rees DL, Gasser R, Meyer UA, Birkett DJ: Site-directed mutation studies of human liver cytochrome P-450 isoenzymes in the CYP2C subfamily. Biochem J. 1993, 289, S.533-538,
- Vormfelde et al., 1997 Vormfelde SV, Bitsch A, Meinike I, Gundert-Remy UM, Gleiter CH: Non-response to maprotiline caused by ultra-rapid metabolism that is different from CYP2D6? Eur J Clin Pharmacol. 1997, 52(5), S.387-90,
- Wedlund, 2000 Wedlund PJ: The CYP2C19 enzyme polymorphism. Pharmacology. 2000, 61, S.174-183
- Wedlund, 2004 Wedlund PJ, De Leon J: Cytochrome P450 2D6 and antidepressant toxicity and response: What is the evidence. Clin Pharmacol Ther. 2004, 75 (5), S.373-375,
- Wilkinson et al., 1989 Wilkinson GR, Guengerich FP, Branch RA: Genetic polymorphism of S-mephenytoin hydroxylation. Pharmacol Ther. 1989, 43, S.53-76,
- Wittchen Wittchen HU: Epidemiology of affective disorders. Band Contemporary Psychiatry. Heidelberg, Springer, S.331-341,
- Wittchen und Unland, 1991 Wittchen HU, Unland H: Neue Ansätze zur Symptomerfassung und Diagnosestellung nach ICD-10 und DSM-III-R: Strukturierte und standardisierte Interviews. Zeitschrift für klinische Psychologie. 1991, 4, S.321-342,
- Wolf und Smith, 1999 Wolf CR and Smith G: Pharmacogenetics. Br Med Bull. 1999, 55(2), S.66-386,
- Wrighton und Stevens, 1992 Wrighton SA and Stevens JC: The human hepatic cytochrome P450 involved in drug metabolism. Crit Rev Toxicol. 1992, 22(1), S.1-21,
- Wrighton et al., 1993 Wrighton SA, Stevens JC, Becker GW, van den Branden M: Isolation and characterization of human liver cytochrome P4502C19: Correlation between 2C19 and S-mephenytoin-4'-hydroxylation. Arch Biochem Biophys. 1993, 306, S.240-245,



- Xie et al., 1999 Xie HG, Stein CM, Kim RB, Wilkinson GR, Flockhart DA, Wood AJ: Allelic, genotypic and phenotypic distributions of S-mephenytoin-4'-hydroxylase (CYP2C19) in healthy Caucasian populations of European descent throughout the world. *Pharmacogenetics*. 1999, 9(5), S.539-549,
- Zanger et al., 2001 Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, Stuvén T, Evert BO, Schwab M et al.: Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of the hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics*. 2001, 11, S.573-585,

**Webseiten**

<http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>; UT Memphis, Department Of Biochemistry 1993: Cytochrome P450 homepage.

<http://www.imm.ki.se/CYPalleles/default.htm>; Karolinska Institutet National Institute Of Environmental Medicine 1999: Human cytochrome P450 (CYP) allele nomenclature committee.

<http://medicine.iupui.edu/flockhart/>; UT Indiana, Department Of Medicine 2002: Cytochrome P450 drug interaction table.

---

## **Danksagung**

Ich danke Herrn Prof. Dr. Ivar Roots für die Überlassung des Dissertations-Themas und für die Möglichkeit, die Arbeit am Institut für Klinische Pharmakologie der Charité anzufertigen.

Besonders möchte ich mich bei Frau Dr. J. Kirchheiner für die sehr engagierte und ausdauernde Unterstützung in der praktischen und theoretischen Einarbeitung in die Thematik der Dissertation sowie für die zahlreichen Hilfestellungen für die Durchführung der Arbeit bedanken.

Vom Institut der Klinischen Pharmakologie der Charité danke im Besonderen Mark Goldammer, der immer ein offenes Ohr für auftretende Fragen und Probleme hatte und mir bei der Lösung dieser mit guten Ratschlägen geholfen hat.

Weiterhin danke ich Anja und Jasmin vom Labor für Molekulargenetik der Klinischen Pharmakologie der Charité für die Zusammenarbeit und Hilfe bei der Bearbeitung der Proben und den molekulargenetischen Analysen. Danke für eine freundliche und angenehme Arbeitsatmosphäre.

Meinem Freund danke ich für seine Geduld und die vielen kleinen Aufmunterungen zwischendurch.

Für die Korrekturhilfe bezüglich der sprachlichen und grammatikalischen Gestaltung der Arbeit danke ich meine Cousine Katja Krikowski-Martin.

Meiner Mutter danke ich für ihr Vertrauen und die mir gegebene Möglichkeit das Medizinstudium zu beenden.

---

### **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Caroline Lorberg, an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel **„Die Bedeutung von Cytochrom-P450-Polymorphismen für Verlauf, Erfolg und Nebenwirkungen der Therapie mit Antidepressiva“** selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen angefertigt und die der Literatur entnommenen Daten als solche gekennzeichnet habe.

Berlin, 27. September 2004

